

Министерство сельского хозяйства Российской Федерации

**Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Саратовский государственный аграрный университет
имени Н.И. Вавилова»**

ВЕТЕРИНАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ И МИКОЛОГИЯ

Краткий курс лекций

для студентов II курса

Специальности

36.05.01 Ветеринария

Саратов 2017

УДК 619:576.8:616-002.8

ББК 636.09

Н19

Рецензенты:

Ветеринарная микробиология и микология: краткий курс лекций для студентов 2 курса специальности 36.05.01 «Ветеринария» / Сост.: Е.С. Красникова, З.Ю. Хапцев// ФГБОУ ВО «Саратовский ГАУ».- Саратов, 2017.- 153 с.

Краткий курс лекций по дисциплине «Ветеринарная микробиология и микология» составлен в соответствии с рабочей программой дисциплины и предназначен для студентов направления подготовки 36.05.01 «Ветеринария». Краткий курс лекций содержит теоретический материал по основным вопросам общей и ветеринарной микробиологии и микологии, рассмотрены вопросы, касающиеся морфологии, физиологии и систематики бактерий и микроскопических грибов, генетики микроорганизмов, влияния факторов внешней среды на микроорганизмы, биологии наиболее значимых для ветеринарии возбудителей инфекционных болезней.

Направлен на формирование у специалистов знаний о биологических свойствах наиболее часто встречающихся у животных возбудителей инфекционных болезней, умений проводить профилактические мероприятия и диагностику инфекционных болезней у животных, владений методами ветеринарной микробиологии, санитарии и оздоровления хозяйств, а также на применение этих знаний для формирования у студентов профессиональной компетенции «Осуществлением необходимых диагностических, терапевтических, хирургических и акушерско-гинекологических мероприятий, знанием методов асептики и антисептики и их применением, осуществлением профилактики, диагностики и лечения животных при инфекционных и инвазионных болезнях, при отравлениях и радиационных поражениях, владением методами ветеринарной санитарии и оздоровления хозяйств» (ПК-3).

УДК 619:576.8:616-002.8

ББК 636.09

© Красникова Е.С., Хапцев З.Ю. 2017
© ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ, 2017

Введение.

Микробиология – одна из важнейших естественнонаучных дисциплин. Она изучает микромир во всем его многообразии: строение, физиологию, биохимию микроорганизмов различных царств, семейств, родов, видов, их генетику, рассматривает вопросы, связанные с ответом макроорганизма на внедрение возбудителей. Современная микробиология является обширной областью естествознания, вследствие этого многие ее разделы представляют собой самостоятельные и связанные между собой научные дисциплины. К такой дисциплине относится ветеринарная микробиология и микология.

Краткий курс лекций по дисциплине «Ветеринарная микробиология и микология» предназначен для студентов специальности 36.05.01 «Ветеринария». Он раскрывает основные понятия общей и ветеринарной микробиологии и микологии. Предполагает освоение теоретических и практических основ микробиологической диагностики инфекционных болезней у животных, вызванных наиболее значимых для ветеринарии возбудителями. Курс лекций нацелен на формирование профессиональных компетенций, необходимых для эффективного решения профессиональных задач и организации профессиональной деятельности на основе глубокого понимания основополагающих вопросов микробиологии.

Лекция 1

ВВЕДЕНИЕ В ДИСЦИПЛИНУ «ВЕТЕРИНАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ И МИКОЛОГИЯ»

1.1. Введение в дисциплину «Ветеринарная микробиология и микология». Предмет и объекты изучения. История возникновения микробиологии

Микробиологией называют науку о мельчайших, невидимых невооруженным глазом организмов, которые вследствие этого получили название микроорганизмы, или микробы. Микробы относятся к представителям всех царств жизни: эукариотам, прокариотам (эубактерии и архебактерии), вирусам и плазмидам. Несмотря на малые размеры они играют важную и разнообразную роль в природе, а также в жизни, здоровье и патологии человека, животных и растений.

Ветеринарная микробиология и микология представляет собой одну из микробиологических дисциплин, которая изучает микроорганизмы, вызывающие инфекционные болезни у сельскохозяйственных, промысловых и диких животных, мелких непродуктивных животных, рыб, пчел – зоонозы, а также возбудителей болезней, общих для животных и человека – зооантропонозы. Ветеринарная микробиология и микология также изучает микрофлору желудочно-кишечного тракта, кормов, продуктов животного происхождения. Ветеринарная микробиология не только изучает биологию возбудителей заразных болезней животных, но и разрабатывает методы специфической диагностики, профилактики и лечения их; она тесно связана с медицинской микробиологией.

Предметом изучения ветеринарной микробиологии служат бактерии и некоторые виды микроскопических грибов.

В зависимости *от объектов* выделяют:

- общую микробиологию;
- частную ветеринарную микробиологию и микологию.

Размеры микроорганизмов лежат за пределами разрешающей способности человеческого глаза, поэтому до изобретения микроскопа человек не знал о существовании столь мелких живых существ. Однако, не зная об этом, люди на протяжении тысячелетий научились широко использовать в своих целях процессы жизнедеятельности многих микробов, в частности, для приготовления кумыса и других молочнокислых продуктов, получения вина, уксуса, пива, силосования кормов, мочки льна и т. п. В течение многих веков природа процессов брожения оставалась неясной. Наряду с этим человек давно познал и другую сторону жизнедеятельности микроорганизмов: их способность вызывать повальные заразные («прилипчивые») болезни, от которых погибало множество людей. Происхождение и причины таких болезней также тысячелетиями были непонятны. Вместе с тем давно подмечено, что существует определенное сходство между процессами брожения и гниения, с одной стороны, и заразными болезнями, часто сопровождаемыми образованием гноя, с другой. Поэтому много веков назад возникла мысль, что решение вопроса о природе брожения и гниения приведет к пониманию и природы заразных болезней. О природе заразных болезней высказывались различные предположения, в том числе и такое, что их возбудителями являются какие-то мельчайшие живые существа — контагии. В наиболее законченной форме эта идея была сформулирована в XVI в. выдающимся итальянским ученым, поэтом и врачом Джироламо Фрака-сторо. В своем главном медицинском труде «О контагии, контагиозных болезнях и лечении» (1546) он четко сформулировал положение, что зараза

— это материальное начало. Идея Фракасторо была правильной и плодотворной, но для ее Научного доказательства не было еще необходимых научно-технических предпосылок — не было микроскопа.

Открытие микробов смогло осуществиться лишь во второй половине XVII в., когда в связи с развитием торговли назрела потребность в усовершенствовании оптики для мореплавания (подзорные трубы, телескопы и т. п.). Впервые микроскоп был сконструирован в Голландии Гансом и Захарием Янсенами в 1590 г., но он давал еще очень слабое увеличение (всего в 32 раза) и не позволял увидеть бактерии. Открытие мира микробов связано с именем А. Левенгука. С помощью своего микроскопа, дающего увеличение до 300 раз, он в 1674 г. обнаружил и описал эритроциты человека, лягушек и рыб, в 1675 г. — простейших, в 1677 г. — сперматозоиды. А. Левенгук наблюдал клетки более чем 200 видов растений и животных. В 1683 г. А. Левенгук подробно описал и зарисовал основные формы бактерий. С открытия Левенгука начинается период зарождения микробиологии как науки и ее становления.

1.2. Основоположники микробиологии. Этапы ее развития

Первый период развития микробиологии был описательным. В этот период английский врач Э. Дженнер впервые успешно осуществил древнюю мечту человечества: обуздать одну из самых страшных болезней человека — натуральную оспу — с помощью вакцинации (искусственных прививок возбудителя коровьей оспы). По мере расширения методов изучения свойств микроорганизмов стала возможной и их систематика. В 1786 г. О. Мюллер выделил два рода бактерий — *Monas* и *Vibrio* — и отнес их к группе инфузорий. В 1838 г. К. Эренберг переименовал их в семейства *Monadna* с одним родом (*Monas*) и *Vibrionia*, в котором выделил четыре рода: *Bacterium*, *Spirillum*, *Vibrio* и *Spirochaeta*. Большой вклад в систематику микробов внес один из основоположников отечественной микробиологии Л. С. Ценков-ский (1822—1887). В своей работе «О низших водорослях и инфузориях» (1855) он установил место бактерий в системе живых существ, указав на близость их к растениям. Л. С. Ценковский описал 43 новых вида микроорганизмов, выяснил микробную природу клека (слизеподобная масса, образуемая на измельченной свекле). Впоследствии, независимо от Пастера, он получил сибирезвенную вакцину, а будучи профессором Харьковского университета (1872—1887), способствовал организации Пастеровской станции в Харькове.

В 1857 г. П. Негели выделил все бактерии в одну самостоятельную группу *Schizomycetes* (грибы-дробянки). Вывод Л. С. Ценковского о природе бактерий поддержал в 1872 г. Ф. Кон, который отделил бактерии от простейших и отнес их к царству растений.

Второй период микробиологии — период ее подлинного рождения как самостоятельной биологической науки и стремительного развития — связан, прежде всего, с именами Л. Пастера, Р. Коха и их учеников. К середине XIX в. научно-технические условия для рождения такой науки, как микробиология, вполне созрели: были сконструированы микроскопы с высокой разрешающей способностью и обнаружено много различных видов микроорганизмов. Наступило время выяснить и доказать их важную роль для человека, в частности, в качестве виновников различных заболеваний людей, животных и растений, а также в процессах брожения и гниения.

В медицине в это время господствовала клеточная теория патологии Р. Вирхова (1821—1902), в соответствии с которой «все болезни в конце концов сводятся к активным или пассивным повреждениям большего или меньшего количества клеток», однако она ничего не говорит о причинах, их вызывающих. В то же время у больных животных и людей в

организме находили различные микроорганизмы. Нужно было решить вопрос: являются ли они следствием болезни или ее причиной?

К середине 50-х гг. XIX в. стало ясно, что пока не будет выяснена природа гнойных осложнений ран, дальнейший прогресс медицины вообще, и хирургии в особенности, не возможен. Л. Пастер установил, что процессы брожения вызываются микроорганизмами, причем каждый вид брожения — определенным видом. Позднее он установил, что и гниение (разложение белковых продуктов) — результат жизнедеятельности микроорганизмов. Таким образом, природа процессов брожения и гниения была наконец выяснена. Трудно переоценить все значение этих открытий Л. Пастера. Благодаря им были заложены основы технической (промышленной) микробиологии, выяснена роль микробов в круговороте веществ в природе, открыты анаэробные организмы. На основе этих работ Л. Пастера Дж. Листером (1827 — 1912) были разработаны принципы антисептики, а затем Л. Пастер дополнил их принципами асептики, благодаря которым и стал возможен дальнейший прогресс в хирургии. Исходя из своих исследований, Л. Пастер смог установить природу болезней вина и пива, показав, что они также являются результатом жизнедеятельности микроорганизмов. Он предложил и метод их предупреждения, названный впоследствии пастеризацией, а затем (после решения проблемы самозарождения) были разработаны методы стерилизации (автоклавирование), столь необходимые для обеспечения принципов асептики в медицине и развития консервной промышленности. Своими исследованиями Л. Пастер подготовил научную общественность к пониманию того непреложного положения, что главными виновниками заразных болезней человека и животных являются микроорганизмы. Пастер не только создал микробиологию как фундаментальную биологическую науку, но и определил ее основные разделы, которые затем выделились в качестве самостоятельных научных дисциплин со своими целями и задачами.

Выдающийся русский ученый И.И. Мечников открыл явление фагоцитоза, работая в лаборатории Пастера. В 1876 г. заявил о себе и другой исследователь, оказавший огромное влияние на становление и развитие медицинской микробиологии, — Роберт Кох. В своей работе Р. Кох подвел окончательную черту под многолетней дискуссией о природе бактерий, обнаруживаемых у больных сибирской язвой животных. П. Эрлих предложил гуморальную теорию иммунитета. В развитие иммунологии большой вклад внесли ученики И. И. Мечникова — А. М. Безредка (1870-1940), Л. А. Тарасевич (1868-1927), И. Г. Савченко, В- И. Исаев - и такие ученые, как Э. Ру, А. Иерсен, Э. Беринг, Ш. Китазато, Ж. Бор-ж. О. Жангу, Г. Рамон и др.

Следующим важным этапом в развитии микробиологии было открытие антибиотиков. В 1929 г. А. Флеминг открыл пенициллин, и началась новая эра — эра антибиотикотерапии, которой суждено было произвести подлинную революцию в медицине. А изучение природы лекарственной устойчивости, которая стала эпидемически распространяться среди бактерий, привело к очередному важному открытию. Оказалось, что у многих бактерий, устойчивых к антибиотикам и иным химиопрепаратам, существует два генома — хромосомный и плазмидный. Изучение плазмид привело к выводу о том, что они представляют собой еще более простые организмы, чем вирусы, и в отличие от последних не разрушают бактерии, а наделяют их дополнительными важными биологическими свойствами. Открытие плазмид и изучение их свойств расширили и углубили представление о формах существования жизни и путях ее эволюции.

Новый этап развития микробиологии, иммунологии и вирусологии начался во второй половине XX в. в связи с рождением молекулярной генетики и молекулярной биологии. В 1944 г. в опытах по трансформации пневмококков впервые было доказано, что носителем

генов является ДНК. Использование бактерий, вирусов, а затем и плазмид в качестве объектов молекулярно-генетических и молекулярно-биологических исследований привело к более глубокому пониманию фундаментальных процессов, лежащих в основе жизни. В области иммунологии исследования на молекулярно-генетическом и молекулярно-биологическом уровне позволили раскрыть структуру антител; выяснить, как осуществляется генетический контроль их биосинтеза, каковы механизмы дифференцировки иммунокомпетентных клеток и их взаимодействия в выработке различных вариантов иммунного ответа. Иммунология вплотную подошла к раскрытию основных принципов и закономерностей саморегуляции иммунной системы на всех ее уровнях. Открываются широкие перспективы использования иммунобиологических модуляторов для лечения различных форм иммунодефицитов, включая рак. За последние годы расшифрована молекулярно-генетическая организация многих вирусов, изучены механизмы их взаимодействия с клетками, особенности противовирусного иммунитета.

Вопросы для самоконтроля

- 1) Какое определение вы можете дать науке «Микробиология» и дисциплине «Ветеринарная микробиология и микология»?
- 2) Предмет и объекты изучения микробиологии.
- 3) Когда возникла наука микробиология, и кто стоял у ее истоков?
- 4) Перечислите исследователей прошлого и настоящего, которые внесли большой вклад в развитие микробиологии.
- 5) Назовите этапы развития микробиологии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. Госманов, Р.Г. Микробиология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.К. Галиуллин, А.Х. Волков, А.И. Ибрагимова. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2017. — 496 с. — Режим доступа: <https://e.lanbook.com/book/91076>
2. Госманов, Р.Г. Микробиология и иммунология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.И. Ибрагимова, А.К. Галиуллин. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2013. — 240 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/12976>.
3. Колычев, Н.М. Ветеринарная микробиология и микология. [Электронный ресурс] / Н.М. Колычев, Р.Г. Госманов. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2014. — 624 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/39147>

Дополнительная

1. Ветеринарная микробиология и иммунология : учебник / Г. В. Дунаев, Н. М. Колычев, Н. А. Радчук ; ред. Н. А. Радчук. - М. : Агропромиздат, 1991. - 383 с. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 5-10-001805-4;

Лекция 2 МОРФОЛОГИЯ И СИСТЕМАТИКА МИКРООРГАНИЗМОВ.

2.1 Морфология бактерий

Мир микроорганизмов чрезвычайно разнообразен. По мере их открытия и изучения они были разделены на следующие группы:

1. Бактерии — *Schizomycetes* (грибы-дрожжанки; лат. *schizo* — расщепляю и *mycetes* — грибы).
2. Лучистые грибы — *Actinomycetes* (лат. *actino* — луч).
3. Нитчатые грибы — *Trichomycetes* (греч. *trichos* — волос).
4. Дрожжевые грибы — *Blastomycetes* (греч. *blastos* — почка, размножаются почкованием).
5. Сине-зеленые водоросли — *Cyanophyta*, они же цианобактерии (*Cyano-bacteria*).
6. Спирохеты — *Spirochaeta* (греч. *speira* — спираль и *chaite* — волос).
7. Простейшие — *Protozoa*.
8. Риккетсии — *Rickettsia*.
9. Микоплазмы — *Mycoplasma*.
10. Вирусы.
11. Плазмиды.

Единственное, что их всех объединяет, — микроскопические размеры. Однако эти организмы существенным образом различаются по многим признакам и прежде всего по уровню организации геномов, наличию и составу белоксинтезирующих систем и клеточной стенки.

Всем бактериям присущи определенная форма и размеры, которые выражаются в микрометрах (мкм). Они варьируют в широких пределах — от 0,1—0,15 (Mycoplasma) до 10—15 мкм (*Clostridium*) в длине и от 0,1 мкм до 1,5—2,5 мкм в диаметре. Большая часть бактерий имеет размеры 0,5—0,8 мкм x 2—3 мкм. Различают следующие основные формы бактерий: шаровидные (сферические), или кокковидные (греч. *kokkos* — зерно); палочковидные (цилиндрические); извитые (спиралевидные); нитевидные. Кроме того, существуют бактерии, имеющие трепальную, звездообразную, тарелкообразную форму (см. цв. вкл., рис. 1.1—1.8). Обнаружены так называемые квадратные бактерии, которые образуют скопления из 8 или 16 клеток в виде пласта.

Кокковидные патогенные бактерии обычно имеют форму правильного шара диаметром 1,0—1,5 мкм; некоторые — бобовидную, ланцетовидную, эллипсоидную форму. По характеру взаиморасположения образующихся после деления клеток кокки подразделяют на следующие группы:

1. Микрококки (греч. *mikros* — малый). Делятся в одной плоскости, располагаются одиночно и беспорядочно; сапрофиты; патогенных для человека нет.

2. Диплококки (греч. *diplos* — двойной). Деление происходит в одной плоскости с образованием пар клеток, имеющих либо бобовидную (*Neisseria gonorrhoeae*), либо ланцетовидную (*Streptococcus pneumoniae*) форму.

3. Стрептококки (греч. *streptos* — цепочка). Деление клеток происходит в одной плоскости, но размножающиеся клетки сохраняют между собой связь и образуют разной длины цепочки, напоминающие нити бус. Многие стрептококки являются патогенными для животных и человека и вызывают различные заболевания, гнойные воспаления и др. (рис. 1.3).

4. Стафилококки (греч. *staphyle* — гроздь винограда). Деление происходит в нескольких плоскостях, а образующиеся клетки располагаются скоплениями, напоминающими гроздь винограда. Стафилококки вызывают более 100 различных

заболеваний животных человека. Они наиболее частые возбудители гнойных воспалений.

5. Тетракокки (греч. *tetra* — четыре). Деление клеток происходит в двух взаимно перпендикулярных плоскостях с образованием тетрад. Патогенные для человека виды встречаются очень редко.

6. Сарцины (лат. *sarcina* - связка, тюк). Деление клеток происходит в трех взаимно перпендикулярных плоскостях с образованием пакетов (тюков) из 8, 16, 32 и большего числа особей. Особенно часто встречаются в воздухе. Имеются условно-патогенные представители (рис. 1.6).

Палочковидные (цилиндрические) формы бактерий. Термин «бактерия» (греч. *bakterion* — палочка) применяется как для названия всего царства прокариот (*Eubacteria*, *Archebacteria*), так и для названия палочек, не образующих спор. Палочки, образующие споры, подразделяют на бациллы (лат. *bacillus* — палочка) — аэробные спорообразующие бактерии, например *Bacillus anthracis* - возбудитель сибирской язвы, и клостридии (лат. *Clostridium* — веретенообразный) — анаэробные спорообразующие бактерии, например *Clostridium tetani* — возбудитель столбняка. Палочки бывают длинными — более 3 мкм (*Clostridium novyi* — возбудитель газовой гангрены), короткими — 1,5—3,0 мкм (*Escherichia coli* и большинство возбудителей кишечных инфекций) и очень короткими — менее 1,0 мкм - в виде коккобактерий (*Francisella tularensis* — возбудитель туляремии, *Brucella melitensis* — бруцеллеза). Концы палочек могут быть закругленными (*Escherichia coli* и др.), заостренными (*Fusobacterium*), утолщенными (*Corynebacterium*), обрезанными (*Bacillus anthracis*); палочка может иметь овоидную (яйцевидную) форму (*Yersinia pestis* — возбудитель чумы). По диаметру их делят на тонкие (*Mycobacterium tuberculosis* — возбудитель туберкулеза) и толстые (*Clostridium perfringens* - возбудитель газовой гангрены). По взаиморасположению бактерий их подразделяют на три группы монобактерии — палочки располагаются одиночно и беспорядочно, сюда относится большинство палочковидных форм; 2) диплобактерии, располагающиеся попарно (*Pseudomonas*); 3) стрептобактерии (*Haemophilus ducreyi* — возбудитель мягкого шанкра) или стрептобациллы (*Bacillus anthracis*) — бактерии, располагающиеся цепочкой.

Извитые (спиралевидные) бактерии по количеству и характеру завитков, а также по диаметру клеток подразделяют на две группы: 1) вибрионы (греч. *vibrio* — извиваюсь, изгибаюсь) имеют один изгиб, не превышающий четверти оборота спирали, однако могут иметь и форму прямой палочки, без изгиба (*Vibrio cholerae* — возбудитель холеры); 2) спириллы (греч. *speira* — спираль) - клетки, имеющие большой диаметр и малое (2—3) число завитков (*Spirillum minor* — возбудитель содоку). Особую группу спиралевидных бактерий представляют спирохеты, выделенные в порядок *Spirochaetales*.

Нитевидные формы бактерий. Различают два типа нитевидных бактерий: образующие временные нити и постоянные.

Временные нити, иногда с ветвлениями, образуют палочковидные бактерии при нарушении условий их роста или регуляции клеточного деления (микобактерии, коринебактерии, а также риккетсии, микоплазмы, многие грамотрицательные и грамположительные бактерии). При восстановлении механизма регуляции деления и нормальных условий роста эти бактерии восстанавливают обычные для них размеры.

Постоянные нитевидные формы образуются из палочковидных клеток, соединяющихся в длинные цепочки.



Рисунок 1.1. Коринебактерии.

2.2. Систематика бактерий. Общая характеристика, основы систематики в историческом аспекте и на современном этапе развития микробиологии. Обязательные и необязательные таксоны

Все известные живые организмы в природе можно разделить на 4 существенно отличающиеся друг от друга царства: вирусы и плазмиды, архебактерии, эубактерии и эукариоты. Архебактерии и эубактерии по признаку отсутствия оформленного клеточного ядра объединяют в группу прокариот. К ним относятся бактерии, сине-зеленые водоросли, спирохеты, актиномицеты, риккетсии и подобные им бактерии, а также микоплазмы. Простейшие, дрожжи, нитчатые грибы и все другие группы живых существ с более высоким уровнем организации, имеющие оформленное клеточное ядро, называются эукариотами.

Систематика занимается всесторонним описанием видов организмов, выяснением степени родственных отношений между ними и объединением их в различные по уровню родства классификационные единицы (таксоны). Классификация — составная часть систематики. Она сводится к распределению организмов в соответствии с их общими признаками по различным таксонам. Таксономия — наука о принципах и методах распределения (классификации) организмов в иерархическом плане. Основной таксономической единицей в биологии является вид (*species*). Виды объединяют в таксоны более высоких рангов: род (*genus*), триба (*tribus*), семейство (*familia*), порядок (*ordo*), класс (*classis*), тип (*phylum*). Помимо этих основных категорий, используются также дополнительные — подрод, подтриба, подсемейство, подпорядок, подкласс, подтип. Иногда употребляются также неформальные категории «отдел» и более общая — «группа».

Общее для всех живых существ определение понятия «вид» дать чрезвычайно трудно в связи с многообразием форм жизни. В микробиологии были предложены различные понятия вида. Н. А. Красильников, автор фундаментального труда «Определитель бактерий и актиномицетов» (1949), дал следующее определение вида: **«Вид — группа или совокупность близких между собой организмов, которые имеют общий корень происхождения, на данном этапе эволюции характеризуются определенными морфологическими, биохимическими и физиологическими признаками, обособлены отбором от других видов и приспособлены к определенной среде обитания».** Это определение подвергалось различными авторами модификациям. Сейчас, когда стало понятно, что степень родства бактерий, их свойства и признаки зависят от их собственных геномов, можно дать более краткое определение вида: **Вид — совокупность микроорганизмов, имеющих общий корень происхождения, сходный генотип (степень гомологии ДНК 60 % и более, близкое суммарное содержание пар Г+Ц) и максимально близкие фенотипические признаки.**

Специфические особенности микроорганизмов определили и набор тех признаков и свойств, которые используются для их систематики и классификации.

Морфологические признаки — величина, форма, характер взаиморасположения.

Тинкториальные свойства — способность окрашиваться различными красителями. Особенно важным признаком является отношение к окраске по Граму, которое зависит от структуры и химического состава клеточной стенки бактерий. По этому признаку все бактерии делятся на грамположительные и грамотрицательные. Морфологические свойства и отношение к окраске по Граму определяют принадлежность к крупным таксонам — роду, семейству и т. д.

Морфологические признаки — величина, форма, характер взаиморасположения.

Тинкториальные свойства — способность окрашиваться различными красителями. Особенно важным признаком является отношение к окраске по Граму, которое зависит от структуры и химического состава клеточной стенки бактерий. По этому признаку все бактерии делятся на грамположительные и грамотрицательные. Морфологические свойства и отношение к окраске по Граму определяют принадлежность к крупным таксонам — роду, семейству и т. д.

3. Культуральные свойства — особенности роста бактерий на жидких (образование пленки, осадок, помутнение) и плотных (форма, размеры, консистенция, края, поверхность, прозрачность колоний, образование пигмента и другие свойства) питательных средах. В микробиологии широко используют такие специфические термины, как «колония», «культура», «штамм», «типы» или «варианты». Под колонией принято понимать видимую простым глазом изолированную структуру, образующуюся в результате размножения и накопления бактерий за определенный срок инкубации. Колония образуется обычно из одной родительской клетки или из нескольких идентичных клеток. Поэтому пересевом из изолированной колонии может быть получена чистая культура возбудителя.

Под культурой понимают всю совокупность бактерий, выросших на плотной или жидкой питательной среде. Как колония, так и культура каждого вида характеризуются определенными признаками.

Каждая выделенная культура данного вида бактерий называется также штаммом, т. е. конкретным образцом данного вида (*нем.* stammen — происходить). Штаммы одного и того же вида бактерий, различающиеся по антигенному строению, называют серотипами (сероварами, серовариантами), по чувствительности к фагу — фаготипами (фаговарами), по биохимическим или культуральным признакам — биотипами (биоварами) ит. п. Штамм можно считать низшей таксономической единицей бактерий.

4. Подвижность бактерий. Различают бактерии подвижные и неподвижные. Подвижные бактерии подразделяют на ползающие, или скользящие, они передвигаются за счет волнообразного сокращения клеток; и плавающие бактерии, у которых активная подвижность связана с наличием жгутиков.

5. Спорообразование — форма и характер расположения споры в клетке.

6. Физиологические свойства — способы углеродного (аутоотрофы, гетеротрофы), азотного (аминоавтотрофы, аминокетотрофы) питания; тип дыхания: аэробы, факультативные анаэробы, строгие анаэробы, микроаэрофилы.

7. Биохимические свойства — способность ферментировать различные углеводы, протеолитическая активность, образование индола, сероводорода, наличие трезы и других ферментов и т. д.

8. Чувствительность к специфическим бактериофагам.

9. Антигенные свойства. Они зависят от химического состава клеточной стенки и жгутиков бактерий.

10. Химический состав клеточных стенок (содержание и состав основных Сахаров и аминокислот).

11. Липидный и жирнокислотный состав. Изучение состава жирных кислот проводят с помощью газовой хроматографии, которая обладает высокой разделительной способностью и чувствительностью.

12. Белковые спектры. С помощью различных методов фракционирования, главным образом двумерного электрофореза в полиакриламидном геле, разделяют смеси рибосомных, мембранных или внутриклеточных белков и получают электрофореграммы, или белковые спектры, соответствующей фракции данного вида бактерий.

В связи с тем, что количество фенотипических признаков, используемых для классификации микроорганизмов, значительно возросло, в конце 50-х гг. XX в. Возникла нумерическая (численная) таксономия. Ее возникновению способствовало появление совершенных компьютерных систем, которые позволяют быстро и точно производить громоздкие математические расчеты. В основе нумерической таксономии лежит принцип сопоставления организмов по возможно большему количеству учитываемых признаков при допущении, что все они для систематики равноценны. Однако принцип равнозначности является основным недостатком этого метода.

В последние годы для классификации бактерий помимо изучения их фенотипических свойств все более широко используют методы геносистематики. В ее основе лежит изучение нуклеотидного состава ДНК и наиболее важных характеристик генома, в частности его размера (величина, объем, молекулярная масса) и других параметров. Наиболее точным методом установления генетического (геномного) родства между бактериями является определение степени гомологии ДНК. Чем больше идентичных генов, тем выше степень гомологии ДНК и ближе генетическое родство.

Признаки, используемые для систематики бактерий, используют и для их *идентификации*, т. е. для установления их таксономического положения и прежде всего видовой принадлежности, что является решающим моментом бактериологической диагностики инфекционных заболеваний. Чаще всего для идентификации патогенных бактерий изучают их морфологические, тинкториальные, культуральные, биохимические и антигенные свойства, а при необходимости и некоторые другие, например отношение к специфическим фагам, антибиотикам и т. Д.

Вопросы для самоконтроля

- 1) Какие основные морфологические формы бактерий вы знаете?
- 2) В чем причина образования цепочек, пакетов, гроздей у бактерий?
- 3) Какие палочковидные бактерии называются бациллами?
- 4) Что общее между бациллами и клостридиями и в чем их различие?
- 5) Почему появилась наука систематика?
- 6) Какие обязательные и необязательные таксоны микроорганизмов вы знаете?
- 7) Какие приемы таксономии бактерий вы знаете?
- 8) Как следует обозначать вид у бактерий и почему?
- 9) Дайте характеристику таким понятиям, как «штамм», «культура», «серовар».
- 10) Как вы понимаете тинкториальные свойства микроорганизмов?
- 11) На чем основана феносистематика и геносистематика?

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. Госманов, Р.Г. Микробиология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.К. Галиуллин, А.Х. Волков, А.И. Ибрагимова. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2017. — 496 с. — Режим доступа: <https://e.lanbook.com/book/91076>

2. Госманов, Р.Г. Микробиология и иммунология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.И. Ибрагимова, А.К. Галиуллин. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2013. — 240 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/12976>.
3. Колычев, Н.М. Ветеринарная микробиология и микология. [Электронный ресурс] / Н.М. Колычев, Р.Г. Госманов. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2014. — 624 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/39147>

Дополнительная

1. Ветеринарная микробиология и иммунология : учебник / Г. В. Дунаев, Н. М. Колычев, Н. А. Радчук ; ред. Н. А. Радчук. - М. : Агропромиздат, 1991. - 383 с. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 5-10-001805-4;

Лекция 3

Систематика и морфология микроскопических грибов. Общая характеристика, размножение

3.1. Систематика и морфология микроскопических грибов

Грибы относятся к эукариотам и выделены в особое царство Eumycota. Название переводится как «грибы настоящие». К ним относится большая группа одноклеточных или многоклеточных организмов, которые имеют признаки, общие с растениями (наличие клеточной стенки, неподвижность, неограниченный верхушечный рост, способность к синтезу витаминов), и животными (гетеротрофный тип питания, наличие хитина в клеточных стенках, запасных углеводов в форме гликогена в цитоплазме, образование мочевины, структура цитохромов). Грибы не имеют хлорофилла, не способны к синтезу органических веществ из углекислого газа и для развития нуждаются в готовых органических веществах.

Все грибы являются эукариотическими клетками, т.е. содержат хорошо оформленное ядро, митохондрии, эндоплазматическую сеть, аппарат Гольджи, лизосомы, рибосомы. Только грибы, в отличие от других эукариотических клеток, содержат сегресомы и хитосомы. Сегресомы представляют собой вакуолеподобные образования, которые регулируют поступление в клетки гриба гидрофобных веществ. Хитосомы - это органеллы, которые содержат фермент хитинсинтазу, необходимую для синтеза хитина, который входит в состав клеточной стенки. Число ядер в грибных клетках различно – от одного до нескольких десятков. Клеточная оболочка грибов не содержит муреина и поэтому она не чувствительна к ферменту лизоциму, который действует на стенку бактериальных клеток. Она толстая, прочная, содержит целлюлозу, гликаны и хитин.

Микроскопические грибы могут быть одноклеточными - дрожжи и нитчатые многоклеточными. Тело нитчатого гриба называют талом, или мицелий. Основу мицелия составляют гифы – многоядерные нитевидные клетки. Гифа может быть разделена на перегородки. В этом случае говорят, что гриб состоит из септированного мицелия, а может быть без перегородок – несептированный мицелий.

Толщина гиф у разных видов грибов различна: от 5 до 15 мкм и больше. Рост гифов осуществляется вершиной или концами разветвлений. При выращивании в лабораторных условиях микроскопических грибов можно наблюдать, что часть мицелия развивается в субстрате, поэтому он называется субстратный мицелий. Этот мицелий получает из него питательные вещества и воду. Другая часть мицелия возвышается над субстратом в виде пушистых, паутинообразных или тонких налетов, пленок и поэтому называется воздушный мицелий. Этот мицелий служит для размножения и вследствие этого носит название репродуктивного.

Многие виды проявляют диморфизм, т.е. в зависимости от условий могут расти в разной форме. В тканях они могут быть представлены в дрожжеподобной форме, а при культивировании в лабораторных условиях – в форме типичных нитчатых форм, образуя мицелий.

Различают грибы-паразиты, грибы-сапрофиты и грибы-симбионты. Грибы-паразиты поражают живые ткани растений, животных и человека, вызывая различные заболевания, называемые микозами. Такое название впервые было дано в 1854 году

немецким патологоанатомом Р. Вирховым. Микозы могут протекать остро и хронически, в локальных и генерализованных формах с развитием летального исхода.

Из ныне известных свыше 100 000 видов грибов для животных и человека патогенны не более 400. Грибы-сапрофиты питаются органическими веществами мертвых тканей или экскрементами. Примерами сапрофитов являются дрожжи и плесневые грибы; последние также могут быть причиной микозов человека и животных.

Царство Eumycota включает следующие отделы:

- низшие грибы (зигомицеты);
- высшие грибы (аскомицеты):
- базидиомицеты;
- дейтеромицеты (несовершенные грибы).

Первые три группы имеют половое размножение, а у дейтеромицетов оно не известно.

У **зигомицетов** мицелий хорошо развит, неклеточный. Бесполое размножение происходит с помощью неподвижных спорангиоспор; половое размножение — зигоспорами. К этому классу относят мукоровые (Mucoraceae) грибы, широко распространенные в природе. Мукоровые грибы характеризуются разнообразием строения органов бесполого спороношения. У некоторых наряду с крупными многоспоровыми спорангиями имеются еще маленькие спорангии с небольшим числом спор — спорангиоли. Многие мукоровые грибы являются возбудителями порчи различных пищевых продуктов. Они относятся также к оппортунистическим грибам, могущим вызывать заболевание у животных при ослаблении защитных сил организма. Мукоровые грибы развиваются на продуктах в виде пушистой белой, серой массы. Наибольшее значение из мукоровых грибов имеют мукор и ризопус.

У большинства **аскомицетов** мицелий хорошо развит, клеточный. К аскомицетам относятся также дрожжи, представленные одиночными почкующимися клетками. Все они имеют, однако, общее происхождение и ряд общих черт в строении. Бесполое размножение мицелиальных аскомицетов происходит с помощью конидий. Конидиальное спороношение разнообразно. Конидиеносцы образуются на мицелии одиночно или группами, образуя коремии, пикниды, ложе. При половом процессе образуются аскоспоры в сумках (асках). Сумки развиваются у многих грибов в плодовых телах разнообразной формы и строения, характерных для отдельных представителей аскомицетов. Некоторые сумчатые грибы не имеют плодовых тел, и сумки у них развиваются непосредственно на мицелии. Грибы, образующие плодовые тела, называют плодосумчатыми, а грибы, не образующие такие тела, — голосумчатыми. Важнейшими представителями немцелиальных голосумчатых грибов являются дрожжи.

В группу *плодосумчатых* включены некоторые виды широко распространенных грибов родов аспергиллус и пенициллиум, способные к сумчатому спороношению. Плодовые тела у них в виде мелких шариков, образованных из плотно переплетенных гиф. Внутри этих шаровидных тел находятся сумки со спорами. Большинство видов аспергиллов и пенициллов встречаются только в конидиальной стадии и относятся к классу несовершенных грибов.

Грибы рода аспергиллус (*Aspergillus*) называют еще леечной плесенью. Они имеют одноклеточные, неразветвленные конидиеносцы. Верхушки конидиеносцев более или менее вздуты и несут на своей поверхности располагающиеся в один или два яруса

стеригмы с цепочками конидий. Конидии различной окраски (зеленоватые, желтые, коричневые), чаще округлые. Конидиеносец по внешнему виду сходен с созревшим одуванчиком.

У грибов рода пенициллиум (*Penicillium*), которые называют также кистевиками за сходство верхней части конидиеносца с кистью руки, конидиеносцы многоклеточные, ветвящиеся. На концах разветвлений конидиеносца располагаются стеригмы с цепочками конидий. Конидии бывают зеленой, голубой, серо-зеленой окраски или неокрашенными.

Аспергилловые и пеницилловые грибы являются распространенными возбудителями порчи (плесневения) пищевых продуктов, промышленных изделий и материалов. Некоторые представители используются в промышленности для получения ферментов или органических кислот, антибиотиков.

Некоторые аспергиллы вызывают заболевания — аспергиллезы (дыхательных путей, кожи, слизистой полости рта) человека и животных. Имеются виды, выделяющие ядовитые для животных и человека вещества, — афлатоксины (производные кумаринов), одним из биологических действий которых является опухолеобразование.

К **базидиомицетам** относят высшие грибы с клеточным мицелием, у некоторых мицелий многолетний. Бесполое размножение (конидиями) наблюдается редко. Органами полового размножения служат базидии с базидиоспорами. У одних грибов базидии одноклеточные, у других — многоклеточные. Одноклеточные базидии цилиндрической или булавовидной формы несут на четырех коротких выростах (стеригмах) по одной базидиоспоре. Многоклеточные базидии состоят из четырех клеток, на которых находится по одной базидиоспоре на стеригме. Базидии с базидиоспорами могут развиваться непосредственно на мицелии, но у многих базидиомицетов имеются плодовые тела.

Большинство **дейтеромицетов** размножается конидиями. Конидиеносцы у разных видов имеют различный внешний вид, располагаются одиночно или группами. Некоторые грибы образуют оидии (артроспоры), имеются формы и без специальных органов размножения. Конидии разнообразны по форме, строению, окраске; они могут быть одноклеточными и многоклеточными.

Многие представители несовершенных грибов являются аскомицетами, а возможно, и базидиомицетами, утратившими способность к половому спороношению, например многие виды *Aspergillus* и *Penicillium*, не имеющие сумчатой стадии развития. Некоторые грибы, рассматриваемые в этом классе, являются конидиальными стадиями развития определенных известных аскомицетов.

Несовершенные грибы широко распространены в природе; многие являются активными возбудителями порчи пищевых продуктов. Некоторые паразитируют на культурных растениях, имеются виды, вызывающие кожные заболевания (дерматомикозы) у людей.

Дрожжи являются одноклеточными неподвижными организмами, широко распространенными в природе; они встречаются в почве, на растениях, в разнообразных субстратах, содержащих сахар.

Широкое использование дрожжей в промышленности основано на их способности вызывать спиртовое брожение — превращение сахара в этиловый спирт и углекислый газ. Дрожжи могут вызывать оппортунистические заболевания у людей и животных.

3.2. Размножение микроскопических грибов

У микроскопических грибов имеется большое разнообразие способов и органов размножения. Грибы размножаются вегетативным, бесполом и половым путями. При бесполом и половом размножении образуются специализированные клетки — споры, с помощью которых и осуществляется размножение.

При вегетативном размножении не происходит образования специализированных органов. Оно осуществляется таллоспорами, т.е. за счет вегетативных частей мицелия: артроспорами, образующимися в результате расчленения гиф, которые на питательном субстрате разрастаются в грибницу; или образующимися на гифах хламидоспорами — толстостенными клетками, устойчивыми к неблагоприятным условиям. Бластоспоры образуются у дрожжей при почковании. Дрожжи могут размножаться с помощью почкования. Почкующиеся клетки обычно образуют не одну, а несколько почек. Вместе с этим может начаться почкование и молодых клеток. Так постепенно образуются скопления из многих объединенных между собой клеток, называемые сростками почкования. Помимо почкования, многие дрожжи размножаются с помощью спор. Образование спор у дрожжей может происходить бесполом и половым путями. При бесполом образовании спор ядро клетки делится на столько частей, сколько образуется спор у данного вида дрожжей, после чего постепенно в клетке (как в сумке) образуются аскоспоры. Образованию спор половым путем предшествует слияние (копуляция) клеток. У некоторых дрожжей копулируют прорастающие споры. Число спор в клетке разных видов дрожжей различно. Их может быть две, четыре, а иногда восемь и даже двенадцать.

Споры большинства дрожжей округлые или овальные, но у некоторых игловидные, шляповидные. У многих на поверхности спор имеются образования типа выростов, бородавок.

Споры дрожжей более устойчивы к неблагоприятным воздействиям, чем вегетативные клетки, но менее стойки, чем бактериальные споры.

В благоприятных условиях споры прорастают в клетки.

При бесполом способе размножения споры образуются на особых гифах воздушного мицелия. Спорообразующие структуры называют спорофорами. Если терминальный конец спорофоры увеличивается в размерах, а затем превращается в закрытое вместилище — спорангий, где образуются споры, то такие споры называют эндоспорами. Подобное размножение имеет место у мукора.

У других грибов споры образуются экзогенно (открыто) — на вершине гиф, снаружи их. Такие споры называют конидиями, а гифы, несущие их, — конидиеносцами

Конидиеносцы развиваются на мицелии поодиночке или группами. При групповом развитии конидиеносцы одних грибов объединяются в пучки (коремии), у других — они располагаются тесным слоем в особых кувшиновидных (пикниды) или блюдцеобразных (ложе) образованиях из плотного сплетения гиф.

Конидии образуются непосредственно на конидиеносце или на специальных клетках, расположенных на его вершине. Эти клетки обычно имеют форму бутылочек и называются с т еритмами или фиалидами. Конидии располагаются на конидиеносцах (или на стеригмах) поодиночке, группами, цепочками.

Спорангиоспоры и конидии бывают различной формы, размера и окраски, что позволяет дифференцировать различные виды грибов .

При половом размножении грибов спорообразованию предшествует половой процесс — слияние половых клеток с последующим объединением их ядер. В

результате образуются специализированные органы размножения. У грибов с клеточным мицелием в качестве органа полового размножения образуются базидии со спорами или сумки со спорами.

Базидия представляет собой мешковидно вытянутую клетку, на которой имеются выросты — стеригмы (обычно четыре), на каждом из которых находится по одной споре. Эти споры называются базидиоспорами. Базидии бывают и многоклеточными.

Сумка (аска) имеет вид цилиндрической клетки, внутри которой находятся споры (чаще восемь), называемые аскоспорами. Аскоспоры бывают различной формы, могут быть бесцветными или окрашенными.

Базидии и сумки иногда располагаются на мицелии поодиночке, но большей частью они развиваются группами или слоями в особых образованиях из плотно переплетенных гиф — плодовых телах. По форме, строению и окраске плодовые тела очень разнообразны.

У грибов с неклеточным мицелием в результате полового процесса образуется одна спора — зигоспора или ооспора. При развитии зигоспоры происходит слияние двух внешне неразличимых клеток мицелия, а при развитии ооспоры — слияние двух различных половых клеток.

Ооспоры и зигоспоры имеют толстую оболочку, содержат много запасных питательных веществ и способны долго сохраняться в неблагоприятных условиях.



Рисунок 3.2. Конидиеносцы и плодовые тела (клеистотеции) грибов: в — *Aspergillus*; б — *Penicillium*; в, з — плодовые тела (общий вид и разрез)

Вопросы для самоконтроля

- 1) Какие микроорганизмы относятся к грибам?
- 2) Расскажите о строении клетки гриба.
- 3) Чем отличаются клетки гриба от прокариотических клеток?
- 4) Какие грибы размножаются половым путем и как их называют, а какие — бесполом и их названия?
- 5) Перечислите полезные и вредные свойства микроскопических грибов.
- 6) Как осуществляется классификация грибов?
- 7) В чем сходство грибов с растительными и животными клетками?

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. Госманов, Р.Г. Микробиология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.К. Галиуллин, А.Х. Волков, А.И. Ибрагимова. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2017. — 496 с. — Режим доступа: <https://e.lanbook.com/book/91076>.

2. Госманов, Р.Г. Микробиология и иммунология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.И. Ибрагимова, А.К. Галиуллин. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2013. — 240 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/12976>.

3. Колычев, Н.М. Ветеринарная микробиология и микология. [Электронный ресурс] / Н.М. Колычев, Р.Г. Госманов. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2014. — 624 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/39147>

Дополнительная

1. Ветеринарная микробиология и иммунология : учебник / Г. В. Дунаев, Н. М. Колычев, Н. А. Радчук ; ред. Н. А. Радчук. - М. : Агропромиздат, 1991. - 383 с. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 5-10-001805-4;

Лекция № 4 Физиология микроорганизмов.

Физиология микроорганизмов изучает процессы их роста, развития, питания, способы получения энергии для осуществления этих процессов, а также происходящие при этом превращения веществ в клетке. Знания физиологии позволяют управлять жизнедеятельностью микроорганизмов, эффективно использовать их в практических целях, а также находить средства борьбы с патогенами – возбудителями инфекционных болезней животных и человека.

4.1. Химический состав микробной клетки

Микробная клетка включает в свой состав 81 химический элемент из более 100, имеющих в земной коре. Преобладающими являются кислород, углерод, водород, азот, фосфор и сера. На их долю приходится до 99 % сухого вещества. Это макроэлементы. Кроме того в состав микроорганизмов входят химические элементы в очень небольшом количестве. Их называют микроэлементами, или следовыми: калий, железо, марганец, фтор, цинк, медь, кремний и другие. Макроэлементы являются структурными, т.к. из них построены неорганические и органические молекулы, а микроэлементы в основном входят в состав ферментов, за счет которых осуществляются все жизненные процессы микробной клетки. Кроме указанных химических элементов в теле микроорганизмов находятся в чрезвычайно малых количествах ультрамикроэлементы: золото, тербий, рубидий и т.д. Они считаются ростовыми факторами.

Соотношение отдельных химических элементов заметно колеблется в зависимости от вида микроорганизма и условий его роста. Так, плесневые грибы и бациллы способны накапливать в своих телах золото.

Все элементы связаны в клетках в различные соединения, среди которых преобладает вода. На воду приходится - 75—85 % массы клеток. Без нее невозможна жизнь любого организма, в том числе микроскопического, поскольку питательные вещества поступают в клетку только будучи растворены в воде, с ней же удаляются и продукты обмена. Вода может находиться в теле микроорганизма в свободном и связанном состоянии.

В свободном состоянии вода является дисперсной средой для коллоидов и растворителем различных органических и минеральных соединений, образующихся в клетке при обмене веществ, т.е. вода — участник многих химических реакций, протекающих в клетке. Часть воды в клетке находится в связанном состоянии с белками, углеводами и другими веществами и входит в клеточные структуры.

Содержание свободной воды в клетке изменяется в зависимости от условий внешней среды, физиологического состояния клетки, ее возраста и т. п. Так, в спорах бактерий и грибов значительно меньше воды, чем в вегетативных клетках, ввиду низкого содержания в них свободной воды. Потеря свободной воды влечет за собой высыхание клетки и более или менее глубокие изменения обмена веществ. С потерей связанной воды нарушаются клеточные структуры и наступает смерть клетки.

На долю сухого вещества клеток микроорганизмов приходится 15—25% их массы. В основном - это органические молекулы: белки, нуклеиновые кислоты, углеводы, липиды и другие соединения. Скелетом всех органических молекул является углерод, который соединяется с водородом, кислородом и азотом, создавая все разнообразные органические молекулы.

4.2. Понятие об обмене веществ, анаболизм и катаболизм

Основу жизнедеятельности микроорганизмов составляет обмен веществ с окружающей средой, которые еще называют метаболизмом. В клетке одновременно протекает огромное количество химических реакций, которые образно называют метаболическим вихрем из-за их скорости. Но несмотря на очень большую скорость, они все организованы и упорядочены.

Метаболизм складывается из двух взаимосвязанных процессов: 1- расщепления веществ поступивших в клетку с высвобождением энергии и ее запасанием. Этот процесс называется катаболизмом, диссимиляцией или энергетическим обменом. 2- биосинтезом сложных органических молекул из простых веществ. Этот процесс называют анаболизмом, пластическим обменом или ассимиляцией.

Метаболизм у бактерий имеет особенности:

- он протекает с очень большой скоростью;
- процессы диссимиляции преобладают над ассимиляцией;
- у них очень большой набор разнообразных ферментов, участвующих в обмене веществ;
- большой набор потребляемых субстратов.

Чтобы жить, микроорганизмам необходим источник энергии для осуществления синтетических процессов. Живые организмы не могут создавать энергию из ничего и не могут ее уничтожить. Они способны только преобразовывать одну форму энергии в другую. Часть энергии используется клеткой для совершения работы, под которой подразумевают движение, поступление веществ в клетку, биосинтез различных соединений, размножение. Часть энергии возвращается клеткой в окружающую среду в виде тепла. Тепло не может быть использовано в качестве источника энергии, поскольку все части клетки имеют одинаковую температуру и давление.

В зависимости от источника энергии все микроорганизмы подразделяются на фототрофов и хемотрофов. Фототрофы, как растения способны использовать энергию солнечного света. Этот процесс называется фотосинтезом, а хемотрофы – энергию химических связей, которая заключена в органических и неорганических молекулах. В частности, в одной молекуле глюкозы в связях между атомами углерода, водорода и кислорода заключено 2800 кДж. Этот процесс называется хемосинтезом. Открыт он был С. Н. Виноградским.

В зависимости от используемого в конструктивном обмене источника углерода микроорганизмы делят на две группы: автотрофы и гетеротрофы.

Автотрофы в качестве единственного источника углерода для синтеза органических веществ тела используют углекислый газ (CO_2).

Гетеротрофы нуждаются в готовых органических соединениях.

Таким образом, учитывая природу основного источника углерода и природу источника энергии, используемой при синтезе органических веществ, микроорганизмы по типам питания можно подразделить на следующие группы.

Фотоавтотрофы для синтеза органических веществ используют световую энергию и неорганический источник углерода (CO_2). К ним относятся цианобактерии, пурпурные и зеленые серные бактерии. Это преимущественно водные бактерии, в них содержатся различные пигменты (каротиноидные, бактериохлорофиллы), поглощающие свет.

Фотогетеротрофы для синтеза органических веществ используют световую энергию и простые органические соединения. Это живущие в водоемах пурпурные несерные бактерии.

Хемоавтотрофы в качестве источника углерода для синтеза органических веществ используют углекислоту, а в качестве источника энергии — реакции окисления неорганических соединений. Относящиеся к этой группе бактерии живут в водоемах, в почве: они специфичны в отношении окисляемого ими вещества. Это бактерии, окисляющие водород с образованием воды (водородные бактерии), аммиак до нитратов (нитрифицирующие бактерии), сероводород до серной кислоты (бесцветные серобактерии), а также окисляющие закисное железо в окисное (железобактерии).

Хемоорганотрофы (хемогетеротрофы) в качестве источников энергии и углерода используют органические соединения. Таким типом питания обладают многочисленные бактерии, грибы, дрожжи.

Одни хемогетеротрофы непритязательны в отношении питательных веществ источников углерода, другие проявляют большую специфичность.

Бактерии и грибы получают питательные вещества из растворов, поэтому их еще называют осмотрофами.

Одни виды микроорганизмов могут сами синтезировать все необходимые вещества. Их называют прототрофами. Другие должны эти вещества получать в готовом виде из окружающей среды. Их называют ауксотрофами. Это микробы-паразиты, живущие в теле другого организма — хозяина, питающиеся веществами его тела. К паразитам относятся возбудители заболеваний человека, животных, растений.

4.3 Ферменты микроорганизмов

Высокая скорость протекания обмена веществ в микробной клетке обусловлена слаженной работой многочисленных ферментов. Ферменты выделяются микроорганизмами непосредственно на потенциальный продукт питания, который под их влиянием подвергается перевариванию. Их называют экзоферментами. Растворенные конечные продукты переваривания всасываются и подвергаются действию эндоферментов внутри клетки.

У бактериальной клетки одни ферменты всегда присутствуют в ней. Их называют конститутивными. Другие синтезируются в зависимости от наличия определенного субстрата в питательной среде. Их называют индуцибельными ферментами.

Многочисленные химические реакции обмена веществ, управляемые ферментами, протекают в определенной последовательности; они согласованы между собой и гармонично сочетаются. Многие промежуточные продукты процессов энергетического обмена участвуют в реакциях процессов строительного обмена. Одно и то же вещество может служить и источником энергии, и материалом для синтеза компонентов тела, но нередко используют для этих целей разные вещества. Конечные продукты обмена веществ выделяются во внешнюю среду.

Ферменты представляют собой простые (протеины) или сложные белки (протеиды), состоящие из белка и небелкового компонента, называемого простетической (активной) группой.

В состав простетической группы ферментов входят витамины или их производные, различные металлы (Fe, Co, Si), азотистые основания и др.

Простетическая группа ферментов обуславливает их каталитическую способность, а белковая часть — специфические свойства, избирательную способность действовать на определенный субстрат.

Прочность связи простетической группы с белком у разных ферментов неодинакова. У некоторых простетическая группа легко может отделяться от белковой части и вступать во временную связь с другими белками. Такие простетические группы называют коферментами.

В однокомпонентных ферментах роль активной группы выполняют определенные химические группировки в молекуле белка, составляя активный центр фермента. Такими группировками могут быть SH-группа, остатки отдельных аминокислот и др.

Ферменты обладают очень высокой активностью. Ничтожно малого количества фермента достаточно, чтобы вовлечь в реакцию значительную массу реагирующего вещества (субстрата).

Ферменты действуют чрезвычайно быстро, резко ускоряя реакцию. Молекула фермента за минуту может вызвать превращение десятков и сотен тысяч молекул соответствующего субстрата.

Характерной особенностью ферментов, отличающей их от неорганических катализаторов, является субстратная специфичность и специфичность действия — каждый фермент взаимодействует лишь с одним определенным веществом и катализирует лишь одно из тех превращений, которым может подвергаться данное вещество. Например, фермент лактаза вызывает расщепление только молочного сахара (лактозы) на глюкозу и галактозу и не действует на другие углеводы; фермент каталаза — только перекись водорода с образованием воды и свободного кислорода.

Специфичность ферментов обусловлена структурными особенностями молекул фермента и субстрата. Субстрат и фермент подходят друг к другу, как перчатка к руке.

Катализируемая ферментом реакция начинается со связывания субстрата с белковой частью фермента в определенном участке ее — активном центре. Образуется комплекс фермент-субстрат. По окончании реакции образовавшийся комплекс фермента с продуктами реакций распадается с освобождением исходного фермента и конечных продуктов ферментативного процесса.

Важнейшим фактором, определяющим активность ферментов, является температура. По мере повышения температуры возрастает начальная скорость ферментативной реакции. Однако при достижении известного предела дальнейшее повышение температуры вызывает денатурацию ферментного белка. Концентрация активного фермента в субстрате непрерывно уменьшается, и чем выше температура, тем быстрее происходит деструкция фермента.

Оптимальная температура, при которой данный фермент наиболее активен, для разных ферментов различна и в известной мере характеризует каждый фермент. Некоторые ферменты после тепловой инактивации восстанавливают свою каталитическую активность (в случае обратимого процесса денатурации белка).

4.4. Питание микроорганизмов

Поступление питательных веществ в клетку

Поступление питательных веществ и воды в клетку, а также выделение продуктов обмена в окружающую среду происходят у микроорганизмов через всю поверхность их тела.

Вещества питательной среды, как уже упоминалось выше, могут поступать в клетку только в растворенном состоянии. Нерастворимые сложные органические соединения должны подвергнуться расщеплению на более простые вне клетки с помощью экзоферментов.

Клеточная стенка проницаема и задерживает лишь макромолекулы. Цитоплазматическая мембрана обладает полупроницаемостью, она является осмотическим барьером; проницаемость ее для различных веществ неодинакова.

Известно несколько путей проникновения питательных веществ в клетку: пассивная диффузия, облегченная диффузия и активный транспорт.

Пассивная диффузия, подчиняется законам осмоса.

При осмотическом проникновении веществ через полупроницаемую мембрану движущей силой является разность осмотических давлений (концентраций веществ) в растворах по обе стороны мембраны, т. е. между средой и клеткой. Такой пассивный перенос веществ — по градиенту концентрации (от более высокой к более низкой) — протекает до уравнивания концентрации и не требует затрат энергии клеткой.

Путем пассивной диффузии проникает в клетку и выделяется из нее вода, кислород, азот, углекислый газ.

Облегченная диффузия осуществляется без энергетических затрат с помощью белков транслоказ, работающих по типу шарнирного механизма. Активный транспорт протекает против градиента концентрации с затратой энергии с помощью белков пермеаз

Большинство питательных веществ поступает в клетку путем переноса их через мембрану специфическими переносчиками—ферментами пермеазами, локализованными в цитоплазматической мембране. Пермеазы они обладают субстратной специфичностью — каждая транспортирует определенное вещество. На внешней стороне цитоплазматической мембраны пермеаза адсорбирует вещество, вступает с ним во временную связь и диффундирует комплексно через мембрану, отдавая на внутренней стороне ее транспортируемое вещество в цитоплазму.

В клетку из питательной среды могут поступать только те вещества, для которых в цитоплазматической мембране имеются соответствующие пермеазы. Таким образом, мембрана является не только осмотическим барьером, но обладает и избирательной проницаемостью.

Энергетический обмен у микроорганизмов

Самым древним способом получения энергии из питательных веществ является брожение, т.е. получение энергии без доступа кислорода. Оно появилось на Земле в то время, когда ее атмосфера была лишена кислорода. Микроорганизмы, способные существовать в таких условиях, называются анаэробами. С появлением на Земле свободного кислорода стало возможным получать энергию при биологическом окислении, или дыхании. При таком способе получения энергии органические молекулы окисляются в присутствии кислорода. Микроорганизмов, использующих этот путь, называют аэробами. Имеется еще одна группа микроорганизмов, могущих жить как в присутствии кислорода, так и без него. В аэробных условиях они получают энергию при окислении, а в анаэробных — при брожении. Их называют факультативными анаэробами.

Многие аэробные микроорганизмы, к которым относят грибы, некоторые дрожжи и многие бактерии, подобно высшим организмам (растениям, животным), окисляют органические вещества полностью до минеральных веществ — углекислого газа и воды.

В качестве энергетического материала в процессе дыхания микроорганизмы часто используют углеводы. При этом сложные (ди-, три- и полисахариды) ферментативным путем гидролизуются до моносахаров, которые и подвергаются окислению.

При полном окислении глюкозы освобождается вся потенциальная (свободная) энергия молекулы глюкозы. Процесс этот многоэтапный и протекает при участии многих ферментов с образованием различных промежуточных продуктов. Обязательным промежуточным продуктом в процессе биологического окисления глюкозы является пировиноградная кислота.

В процессе дыхания аэробных микроорганизмов пировиноградная кислота в дальнейшем подвергается полному окислению до углекислого газа и H_2O , вступая в

сложный цикл превращений (цикл Кребса) с образованием три- и дикарбоновых кислот, последовательно окисляющихся (отщепляется H_2) и декарбоксилирующихся (отщепляется CO_2). Освобождающаяся при переносе электронов в дыхательной цепи энергия затрачивается на синтез АТФ из АДФ и неорганического фосфата, т. е. запасается в форме энергии фосфатной связи АТФ. Этот процесс называется окислительным фосфорилированием.

Имеется еще один вид дыхания - анаэробное, при котором конечными продуктами являются не углекислый газ и вода, а другие неорганические молекулы, также бедные энергией. Это нитраты, сульфаты, карбонаты и также вода.

Энергетическим материалом при брожении чаще служат углеводы, из них наиболее используемый — глюкоза. При брожении синтезируется мало АТФ. На 1 молекулу глюкозы приходится всего 2 молекулы АТФ, а в результате дыхания – 36 молекул. Это связано с тем, что при брожении остается еще очень много энергии в органических молекулах, которые микробные клетки не могут использовать, и они являются отходами их жизнедеятельности.

В зависимости от конечного продукта различают следующие виды брожения: молочнокислое, спиртовое, маслянокислое, пропионовокислое, муравьинокислое и т.д. Спиртовое брожение осуществляется многими дрожжами в анаэробных условиях. Молекула глюкозы (энергетический материал) в этом процессе превращается в две молекулы этилового спирта и две молекулы углекислого газа с выделением энергии. Маслянокислое брожение осуществляется клостридиями, молочнокислое брожение – лактобактериями.

В одних случаях образуется один вид продукта, и такое брожение называют гомоферментным. В других случаях образуется несколько различных веществ, и такое брожение называют смешанным. Например, при молочнокислом брожении образуется молочная кислота, спирт, ацетон, при муравьинокислом – дополнительно молочная, уксусная кислоты и другие продукты. Л.Пастер впервые доказал, что каждый вид брожения обусловлен определенными микроорганизмами.

Описано 3 пути субстратного фосфорилирования, названного по имени открывших их авторов:

1 путь – Эмбдена-Мейергофа- Парнаса, при котором осуществляются все виды брожения;

2 путь – пентозофосфатный, при котором образуются пентозы: рибоза и дезоксирибоза, необходимые для синтеза нуклеиновых кислот;

3 путь Энтнера – Дудорова. Этот путь имеется только у аэробных прокариотов. Метаболизм при этом называют окислительным.

Пластический метаболизм

Освобождаемая в процессах дыхания и брожения свободная энергия не может быть непосредственно использована клеткой. Она должна быть преобразована в биологически полезную форму— в химическую энергию макроэргических фосфатных связей фосфорорганических соединений, главным из которых является АТФ. Только часть энергии окисления органических веществ переводится в доступную для клетки форму (резервируется в АТФ). Значительное количество, преимущественно в виде тепловой энергии, теряется — рассеивается во внешней среде.

АТФ является универсальным переносчиком химической энергии между реакциями, как с выделением энергии, так и с ее затратой. АТФ называют «энергетической валютой» клетки. Из этого своеобразного аккумулятора организм черпает энергию для удовлетворения своих потребностей.

Синтез исходных продуктов происходит в цитоплазме микробной клетки. Микроорганизмы синтезируют моно-, олиго-, полисахариды и другие соединения, в состав которых входят углеводы. Автотрофы синтезируют глюкозу из углекислого газа атмосферного воздуха. Гетеротрофы синтезируют глюкозу из углеродсодержащих соединений с длиной цепи C_2 — C_3 . В обоих случаях используются в основном реакции гликолиза, идущие в обратном направлении.

Липиды микроорганизмов представлены жирными кислотами, фосфолипидами, воском, терпенами, каротиноидами, которые содержат длинноцепочечные насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты. Многие микроорганизмы могут получать аминокислоты из молекул белка, которые предварительно расщепляются ими с помощью протеаз и пептидаз. Образовавшиеся олигопептиды и аминокислоты переносятся в микробные клетки, где включаются в метаболические пути биосинтеза или подвергаются дальнейшему расщеплению. Ауксотрофные по некоторым аминокислотам прокариоты (ряд патогенных бактерий, микоплазмы, спирохеты) потребляют их в готовом виде в организме хозяина.

Липиды микроорганизмов представлены жирными кислотами, фосфолипидами, воском, терпенами, каротиноидами, которые содержат длинноцепочечные насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты. Центральную роль в биосинтезе фосфолипидов играет цитидинфосфатглицерид, являющийся непосредственным предшественником фосфатидилглицерина, фосфатидилинозита и фосфатидилглицерофосфата. Остальные фосфолипиды образуются путем ферментативных превращений этих соединений.

4.5. Рост и размножение микроорганизмов

Различают рост микробной клетки и рост популяции, т.е. размножение. Ростом клетки называют увеличение массы клетки без изменения их числа в результате согласованного увеличения количества всех химических компонентов. Размножение — это увеличение числа клеток.

Бактерии обычно размножаются бесполым путем — делением. Из одной клетки образуются две, каждая из которых делится в свою очередь. Такое деление при благоприятных условиях может продолжаться бесконечно долго. Вначале делится нуклеоид, затем между двумя будущими клетками образуется перегородка, состоящая из двух слоев цитоплазматической мембраны. Затем между этими двумя слоями появляется материал, из которого образуются два слоя клеточной оболочки. После расслоения клеточных оболочек клетки расходятся.

Грамположительные бактерии делятся посредством образования перегородки, вырастающей от клеточной стенки к центру. У микобактерий перегородка образуется внутри клетки, затем расщепляется на два слоя и разделяет клетку на две. Грамотрицательные бактерии, как правило, истончаются в центре и разделяются перегородкой на две клетки.

Скорость размножения микроорганизмов зависит от состава среды, температуры, условий питания, влажности и ряда других факторов. При благоприятных условиях многие бактерии делятся через 20-30 мин.

Недостаток пищи и накопление продуктов распада ограничивают скорость размножения. В проточной среде с непрерывно обновляющимся составом бактерии могут делиться каждые 15 мин. Скорость размножения различных видов бактерий неодинакова даже при наличии тождественных условий.

Процесс размножения бактерий в свежей жидкой питательной среде включает в себя несколько этапов. Стационарная фаза — период задержки размножения. В этот период, который длится 1—2 ч, бактерии, внесенные в свежую питательную среду, не

размножаются. Лаг-фаза — приспособление бактерий к новой среде и к последующему размножению в ней. К концу лаг-фазы объем клеток увеличивается. Длительность лаг-фазы зависит как от внешних условий, так и от возраста бактерий и их видовой специфичности. Логарифмическая фаза развития — время интенсивного логарифмического или экспоненциального размножения. В данный период размножение бактерий идет с максимальной скоростью, а число клеток увеличивается в геометрической прогрессии. За этими фазами наступает стадия, характеризующаяся постепенным уменьшением количества жизнеспособных бактерий вследствие истощения источников энергии, накопления продуктов метаболизма и других факторов. Это фаза отрицательного ускорения, за которой следует максимальная стационарная фаза, при которой имеется равновесие между количеством погибших и вновь образующихся клеток, клеток, находящихся в состоянии покоя. Следующие фазы — это фаза логарифмической гибели клеток и фаза уменьшения скорости отмирания.

На плотной питательной среде скорость роста меньше на 10-30% по сравнению с жидкой из-за того, что клетки только частично обращены к питательной среде. Различают 3 фазы. Первая фаза — это фаза экспоненциального роста радиуса монослойной микроколонии. 2-я фаза — это фаза экспоненциального роста радиуса и высоты многослойной микроколонии. 3-я фаза — фаза линейного роста радиуса и высоты.

Вопросы для самоконтроля

- 1) Как вы понимаете метаболизм?
- 2) Из каких взаимосвязанных процессов состоит метаболизм?
- 3) В чем отличие дыхания от брожения?
- 4) Охарактеризуйте катаболизм у различных микроорганизмов?
- 5) Какие конечные продукты получаются при брожении, аэробном и анаэробном дыхании?
- 6) Где запасается энергия, которая высвобождается при катаболизме?
- 7) Из каких химических элементов состоят микробные клетки?
- 8) Перечислите неорганические и органические молекулы, которые входят в состав микроорганизмов?
- 9) Как вы понимаете процесс анаболизма?
- 10) Охарактеризуйте роль ферментов в обмене веществ микроорганизмов.
- 11) Какие факторы необходимы для работы ферментов?
- 12) Что такое рост и размножение микроорганизмов?
- 13) Перечислите фазы роста бактериальной популяции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. Госманов, Р.Г. Микробиология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.К. Галиуллин, А.Х. Волков, А.И. Ибрагимова. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2017. — 496 с. — Режим доступа: <https://e.lanbook.com/book/91076>
2. Госманов, Р.Г. Микробиология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.К. Галиуллин, А.Х. Волков, А.И. Ибрагимова. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2011. — 496 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/1546>.
3. Госманов, Р.Г. Микробиология и иммунология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.И. Ибрагимова, А.К. Галиуллин. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2013. — 240 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/12976>.
4. Колычев, Н.М. Ветеринарная микробиология и микология. [Электронный ресурс] / Н.М. Колычев, Р.Г. Госманов. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2014. — 624 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/39147>

Дополнительная

1 1. Ветеринарная микробиология и иммунология : учебник / Г. В. Дунаев, Н. М. Кольчев, Н. А. Радчук ; ред. Н. А. Радчук. - М. : Агропромиздат, 1991. - 383 с. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 5-10-001805-4;

Лекция № 5

ВЛИЯНИЕ ФАКТОРОВ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ НА МИКРООРГАНИЗМЫ.

Микроорганизмы лучше адаптируются к экстремальным физическим и химическим факторам окружающей среды, чем животные и растения. Некоторые бактерии сохраняют жизнеспособность при температуре до $+104^{\circ}\text{C}$, в диапазоне pH от 1 до 13, давлении 0 до 1400 атм., длительно живут в бидистиллированной воде и в насыщенных растворах солей, не погибают при интенсивном освещении, в присутствии тяжелых металлов, антисептиков, антибиотиков и дезинфектантов. В то же время для каждого вида есть наследственно обусловленные оптимальные уровни и критические границы чувствительности микробов к физическим, химическим и биологическим факторам.

5.1. Влияние физических факторов

Температурный фактор

Температура имеет важнейшее значение для регуляции интенсивности метаболических реакций микробных клетках. В зависимости от температурных предпочтений микроорганизмы делят на три группы микроорганизмов — *термофилы*, *психрофилы*, *мезофилы*

Для *термофилов* оптимальная температурная зона роста 60°C , верхняя зона задержки роста — 75°C , нижняя — 45°C Термофилы не размножаются в организме теплокровных животных.

Психрофилы имеют оптимальную температурную зону в пределах $10-15^{\circ}\text{C}$, максимальную зону задержки роста 25°C минимальную $0-5^{\circ}\text{C}$. Психрофилы являются свободно живущими микроорганизмами или паразитами холоднокровных животных, но некоторые факультативные психрофилы, например иерсинии, клебсиеллы, псевдомонады вызывают заболевания у животных и человека. Размножаясь в пищевых продуктах при температуре бытового холодильника, эти бактерии нередко повышают вирулентность.

Большинство патогенных бактерий — *мезофилы*. Они обитают главным образом в организме теплокровных животных. Оптимальная температура их роста колеблется в пределах $35-37^{\circ}\text{C}$, максимальная $43-45^{\circ}\text{C}$, минимальная $15-20^{\circ}\text{C}$. В окружающей среде могут переживать, но обычно не размножаются. При пониженной температуре подавляется образование факторов, отвечающих за патогенные свойства. Эти изменения обратимы, восстановление признаков происходит через 2-3 ч культивирования бактерий при оптимальной температуре.

Критические температурные параметры неодинаковы для разных микробов. Повреждающее действие высокой температуры связано с необратимой денатурацией ферментов и других белков, низкой — с разрывом клеточной мембраны кристаллами льда и приостановкой метаболических процессов. *Вегетативные формы* погибают при температуре $60-80^{\circ}\text{C}$ в течение часа, при 100°C — мгновенно. *Споры* устойчивы к температуре 100°C , гибнут при 130°C . Нижняя температурная граница гибели некоторых патогенных агентов варьирует от -20°C до абсолютного нуля.

Механизм температурной адаптации обусловлен изменением структуры белка в клеточной мембране или с увеличением в ней содержания ненасыщенных жирных кислот.

Влажность среды

Рост и размножение микроорганизмов происходят во влажных средах. Вода необходима для пассивного и активного транспорта питательных веществ в клетку. Чувствительность микроорганизмов к высушиванию и сроки переживания на объектах внешней среды в этих условиях зависят от вида и формы возбудителя — с одной стороны, и свойств объекта — с другой.

Споры бактерий сохраняются длительное время. Многие виды микроорганизмов: микобактерии туберкулеза, вирус натуральной оспы, сальмонеллы, актиномицеты, грибы устойчивы к быстрому высушиванию. Вместе с тем для *длительного хранения* бактерий, грибов и вирусов применяют технологию лиофильного высушивания. Суть ее заключается в замораживании культуральной биомассы в специальных средах при температуре от -50°C и ниже с последующим медленным удалением кристаллизованной воды в специальных вакуумных аппаратах. Высушенные в ампулах микробы хранятся в низкотемпературных холодильниках в течение нескольких лет и даже десятилетий. После добавления жидкости к сухой таблетке происходит регидратация бактериальных и грибковых клеток с восстановлением их ростовых и иных биологических свойств.

Ионизирующая радиация и УФ-излучение

Повреждающее действие радиации зависит прежде всего от ее характера, в меньшей степени от вида микроорганизма. Ионизирующая радиация может вызывать повреждения генома бактерий различной глубины — от несовместимых с жизнью дефектов до точечных мутаций. Для микробных клеток летальные дозы в сотни и тысячи раз выше, чем для животных и растений.

Повреждающее действие УФ-излучения, наоборот, в большей мере выражено в отношении микроорганизмов, чем животных и растений. УФ-лучи в относительно небольших дозах вызывают повреждения ДНК микробных клеток, которые приводят к мутациям или их гибели. Световое и инфракрасное излучение при интенсивном и длительном воздействии способно оказать повреждающее влияние лишь на некоторые микроорганизмы.

Ультразвук

Определенные частоты ультразвука способны вызывать деполимеризацию органелл микробных клеток, а также денатурацию входящих в их состав молекул в результате локального нагревания или повышения давления. Этот феномен используется для получения антигенов путем дезинтеграции микробной клетки.

Давление

Атмосферное давление даже в сотни атмосфер не оказывает существенного влияния на бактерии. Однако к осмотическому давлению, как повышенному, так и сниженному они высокочувствительны. При этом происходит разрыв клеточной мембраны и гибель микробных клеток в результате осмотического шока

5.2. Влияние химических факторов

Противомикробным действием обладают галогены и их соединения, окислители, кислоты и их соли, щелочи, спирты, альдегиды, соли тяжелых металлов, фенол и его производные, поверхностно-активные вещества, красители и многие другие химические вещества. Они разрушают важнейшие структурные элементы — клеточную стенку, цитоплазматическую мембрану, нуклеиновые кислоты и инактивируют ферменты.

Многие химические вещества действуют губительно на микроорганизмы. Такие вещества называют антисептиками. Их действие зависит от концентрации и продолжительности воздействия, а также от рН среды и температуры. В очень малых

дозах антисептики оказывают даже благоприятное действие, стимулируя размножение или биохимическую активность микробов. С повышением концентрации антисептиков подавляется развитие микробов, а затем они быстро отмирают. Чувствительность различных видов к одному и тому же антисептику неодинакова.

Из неорганических соединений наиболее сильно действующими на микроорганизмы являются соли тяжелых металлов, особенно соли ртути.

Ионы некоторых тяжелых металлов — золота, меди, и особенно серебра, а также эти элементы в наноформе, присутствуя в растворах в ничтожно малых концентрациях, не поддающихся непосредственному определению, оказывают губительное действие на микроорганизмы.

Бактерицидное действие проявляют многие окислители (хлор, йод, перекись водорода, марганцовокислый калий), минеральные кислоты (сернистая, борная, фтористоводородная). Отрицательно воздействуют на микроорганизмы сероводород, окись углерода, сернистый и углекислый газы.

Некоторые органические соединения также являются ядами для микробов, например, формалин, фенолы. Вегетативные клетки многих бактерий довольно быстро погибают в 2—5%-ном растворе карболовой кислоты, в то время как споры некоторых бактерий в 5%-ном растворе сохраняют жизнеспособность в течение двух недель и дольше. Соли тяжелых металлов, формалин, фенолы вызывают коагуляцию белковых веществ клетки и являются ферментными ядами.

В различной степени губительно действуют на микроорганизмы спирты, некоторые органические кислоты, например салициловая, масляная, уксусная, бензойная, сорбиновая. Неблагоприятное воздействие этих кислот связано не со снижением pH среды, а с проникновением в клетку недиссоциированных молекул этих кислот.

Бактерицидным действием обладают также эфирные масла, дубильные вещества, многие красители (генцианвиолет, бриллиантовая зелень, фуксин). Механизм действия антисептиков различен. Многие антисептики используют в ветеринарии, медицине, сельском хозяйстве, промышленности и в быту как дезинфицирующие средства для борьбы с болезнетворными микробами. Широко применяют хлор (в газообразном или жидком виде и в форме его соединений) для дезинфекции питьевой воды, тары, оборудования, инвентаря.

5.3. Влияние биологических факторов. Понятие об антибиотиках.

При наличии в среде микроорганизмов между ними устанавливаются различные взаимоотношения. В одних случаях совместная жизнь двух или нескольких видов приводит к взаимной пользе и совместно они развиваются даже лучше, чем каждый в отдельности. Такой тип взаимоотношений называется *симбиозом*. Такой симбиоз устанавливается, например, между обитателями рубца жвачных животных, между симбионтами происходит частичный обмен продуктами жизнедеятельности.

Если взаимная польза не выражена отчетливо, но сожительство не приносит вреда организмам, то говорят о *комменсализме*. Примером такой формы сожительства может служить нормальная микрофлора организма животных и человека.

Форма взаимоотношений, когда совместная жизнь приносит выгоду только одному организму, а другому наносит вред, называется паразитизмом. Паразитами являются возбудители болезней человека, животных и растений.

Между микроорганизмами очень распространены взаимоотношения, когда жизнедеятельность одних микробов способствует развитию других или когда один живет за счет продуктов жизнедеятельности другого, не причиняя ему вреда. Этот тип взаимоотношений называют *метабиозом*.

Между микроорганизмами распространены также *антагонистические взаимоотношения*, когда один вид микробов угнетает или приостанавливает развитие другого и даже вызывает его гибель. Антагонистические взаимоотношения в мире микробов, являются одним из важных факторов, определяющих состав микрофлоры природных субстратов.

Антибиотики.

Во многих случаях губительное воздействие микробов-антагонистов связано с выделением ими в среду специфических биологически активных химических веществ. Эти вещества называют вторичными метаболитами, которым относят в частности, *антибиотиками*. Выделено и изучено большое количество антибиотиков. По химической природе они очень разнообразны. Одни антибиотики действуют только на определенный вид микроорганизма. Это антибиотики узкого спектра действия. Другие действуют на широкий круг паразитов. Это антибиотики широкого спектра действия. Одни антибиотики активно действуют на грибы, другие — на бактерии или простейших. Имеются антибиотики, действующие как на грибы, так и на бактерии. Существуют противовирусные антибиотики.

Эффективность действия антибиотиков может изменяться в зависимости от их концентрации, температуры, состава среды и других факторов.

Однако микроорганизмы способны адаптироваться к антибиотикам, в результате чего возникают нечувствительные (устойчивые) к ним формы, т.е. развивается резистентность.

Антибиотические вещества вырабатываются не только микроорганизмами, но также растениями и животными.

Антибиотические вещества растительного происхождения были открыты Б. П. Токиным (1928 г.) и названы фитонцидами (от греч. «фитон» — растение). Б. П. Токин обнаружил, что летучие вещества, выделяемые некоторыми растениями, а также их тканевые соки вызывают гибель инфузорий, бактерий, дрожжей, плесеней.

Фитонциды широко распространены в мире растений. Они обнаружены в разных органах большинства культурных и дикорастущих растений и играют немалую роль во взаимовлиянии их в природных условиях. Фитонциды являются одним из факторов естественной сопротивляемости растений к поражению их микробами.

К антибиотическим веществам животного происхождения относят следующие.

Лизоцим — белковое вещество, вырабатываемое различными тканями и органами животных и человека. Оно содержится в яичном белке, слезах, слюне, рыбной икре. Лизоцим не только убивает чувствительные к нему бактерии, но и растворяет их.

Эритрин — вещество, получаемое из красных кровяных шариков (эритроцитов) животных. Эритрин проявляет бактериостатическую активность в отношении стафилококков и стрептококков.

Экмолин получен из тканей рыб. Он активен против бактерий, вызывающих кишечные заболевания.

5.5. Использование факторов внешней среды для борьбы с микроорганизмами

В основе методов профилактики и борьбы с инфекционными болезнями лежат разнообразные методы уничтожения или подавления жизнедеятельности патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Главная цель проводимых мероприятий — прерывание возможной передачи возбудителей от источников их выделения (больных или практически здоровых носителей) к восприимчивым индивидуумам.

Прямые антимикробные методы обозначают термином *микробная деконтаминация*, под которой понимают полное или *частичное удаление микроорганизмов с объектов*

внешней среды и биотопов человека с помощью факторов прямого повреждающего действия. Может быть выделено два принципиально различных типа деконтаминации: *микробная деконтаминация неживых объектов* (стерилизация и дезинфекция) и *микробная деконтаминация живых организмов* (антисептика и химиотерапия).

Стерилизация и пастеризация

Стерилизация — освобождение объекта от всех микроорганизмов с помощью физических и/или химических способов.

В медицинской и ветеринарной практике стерилизации подвергают инструментарий, перевязочный, шовный материал, операционное белье, лекарственные препараты, питательные среды, лабораторную посуду, а при создании безмикробной среды — воздух операционных. Должны быть стерилизованы все изделия, которые соприкасались с раневой поверхностью, кожными покровами или слизистыми оболочками.

Различают следующие методы стерилизации:

1. Физические — термический, радиационный и механический
2. Химические — растворами и газами.

Выбор метода стерилизации зависит от свойств материалов, из которых состоят стерилизуемые изделия, их размера и других конструктивных особенностей, от обязательности или необязательности длительного сохранения стерильности и от других факторов.

Пастеризация — это щадящий способ температурной обработки, при котором инактивируется большинство вегетативных форм бактерий, однако споры бактерий сохраняются. Используют для обезвреживания некоторых жидких продуктов (молока, вина, пива, сок с целью сохранить их вкусовые качества и ценные компоненты (витамины, ферменты), а также для продления срока их хранения.

В зависимости от вида продукта пастеризуют при 60-70°C в течение 20-30 мин. (*низкая пастеризация*), при 72°C от 15 до 60 с (*высокая пастеризация*), или в течение нескольких секунд при 90°C (*мгновенная пастеризация*). Всегда после окончания режима пастеризации жидкость быстро охлаждают, предупреждая пророст споровых форм. С помощью специальных аппаратов применяют *ультрапастеризацию*, моментально повышая за 0,75 с температуру жидкости до 150°C.

Дезинфекция

Дезинфекция — это мероприятия, направленные на уничтожение или резкое подавление численности патогенных и условно-патогенных микроорганизмов во внешней среде, в том числе на объектах и изделиях. Целью дезинфекции является предупреждение или прерывание передачи возбудителей от инфицированного индивидуума к интактному через объекты внешней среды (фактор - передачи).

Антисептика и асептика

Антисептика — это система мер быстрого подавления патогенных и условно-патогенных микроорганизмов на коже и со слизистых оболочек хирургов, оперируемых, раненых, персонала особо чистых производств.

Главным методом антисептики является обработка химическими веществами с преимущественно микростатическим действием (антисептиками) с учетом спектра их антимикробной активности и чувствительности конкретных возбудителей.

Асептика включает в себя совокупность прямых (стерилизация, дезинфекция, антисептика) и косвенных методов воздействия на микроорганизмы с целью создания безмикробной зоны или зоны с резко сниженной численностью микроорганизмов при проведении ветеринарных вмешательств и исследовательских манипуляций.

Асептическая практика применяется в операционных залах, лабораторных боксах, в биотехнологии и производстве многих лекарственных препаратов. Косвенные, т.е. разделительные меры, заключаются в использовании герметичных перегородок в рабочих помещениях, специальной одежды и обуви, перчаток, систем воздушных бактериальных фильтров.

Вопросы для самоконтроля

1. Объясните, почему микроорганизмы лучше адаптируются к экстремальным физическим и химическим факторам окружающей среды, чем животные.
2. Какие микроорганизмы называются термофилами, психрофилами, мезофилами? Назовите их температурный оптимум.
3. Как влияет реакция среды на жизнедеятельность микроорганизмов?
4. Почему невозможны рост и размножение микроорганизмов без наличия свободной воды?
5. Расскажите, как действуют на микроорганизмы ионизирующая радиация, УФ-излучение и давление.
6. Какие вещества называют антисептиками? От каких факторов зависит их действие на микроорганизмы?
7. Какое действие веществ на микроорганизмы называют олигодинамическим? Какой механизм их действия на микробную клетку?
8. Микробный антагонизм и его практическое использование.
9. Действие на вегетативные и споровые формы микробов высоких и низких температур. В чем заключается термоустойчивость спор? Методы надежного уничтожения спор.
10. Антибиотикоустойчивость микробов, механизм ее возникновения. Устойчивость негенетического происхождения. Существующие методы определения антибиотикоустойчивости микробов и их практическое значение.
11. Перечислите химические факторы, используемые для борьбы с микроорганизмами.
12. Объясните различие между стерилизацией и пастеризацией.
13. Какие методы стерилизации вы знаете?
14. Для каких целей используют пастеризацию, и какие виды пастеризации вы знаете?
15. В чем различие асептики и антисептики, где используют эти методы?

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. Ветеринарная микробиология и иммунология : учебник / Г. В. Дунаев, Н. М. Колычев, Н. А. Радчук ; ред. Н. А. Радчук. - М. : Агропромиздат, 1991. - 383 с. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 5-10-001805-4;
2. Госманов, Р.Г. Микробиология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.К. Галиуллин, А.Х. Волков, А.И. Ибрагимова. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2011. — 496 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/1546>.
3. Госманов, Р.Г. Микробиология и иммунология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.И. Ибрагимова, А.К. Галиуллин. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2013. — 240 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/12976>.
4. Колычев, Н.М. Ветеринарная микробиология и микология. [Электронный ресурс] / Н.М. Колычев, Р.Г. Госманов. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2014. — 624 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/39147>

Дополнительная

- 1 Павлович С.А. Микробиология с вирусологией и иммунологией [Электронный ресурс]: учебное пособие/ Павлович С.А.— Электрон. текстовые данные.— Минск: Вышэйшая школа, 2013.— 800 с.— Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/24067>.— ЭБС «IPRbooks».

Лекция № 6

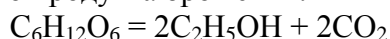
Важнейшие биохимические процессы, вызываемые микроорганизмами.

6.1. Круговорот углерода

Круговорот углерода в природе осуществляется с участием микроорганизмов, которые с помощью своих ферментов разлагают сложные углеродсодержащие органические соединения до диоксида углерода и воды. Этот процесс называется брожением. Выделившийся углекислый газ ассимилируется зелеными растениями. Последние в присутствии хлорофилла, используя солнечную энергию, из углекислого газа и воды синтезируют сложные органические соединения, которые усваиваются животными.

Спиртовое брожение

При спиртовом брожении микроорганизмы превращают углеводы с образованием этилового спирта как основного продукта брожения:



К возбудителям спиртового брожения относятся некоторые дрожжи, главным образом из рода *Saccharomyces* (*S. cerevisiae*, *S. globosus*, *S. vini* и др.). В небольших количествах спирт может накапливаться в среде, содержащей углеводы, при развитии в ней некоторых грибов из родов *Mucor* и *Fusarium* и бактерий (*Zygnomonas mobilis*, *Sarcina ventriculi*, *Erwinia amylovora* и др.).

При доступе кислорода воздуха дрожжи, вызывающие брожение, начинают окислять углеводы, то есть от брожения переходят к процессу аэробного дыхания. В этом случае коэффициент использования углеводов увеличивается.

Молочнокислое брожение

Возбудители – молочнокислые бактерии. Различают 2 вида брожения:

Гомоферментативное молочнокислое брожение – конечным продуктом брожения является молочная кислота

Гетероферментативное молочнокислое брожение – в зависимости от условий брожения конечными продуктами кроме молочной кислоты являются уксусная кислота, этанол, янтарная кислота, углекислый газ, водород, диацетил

Пропионовокислое брожение

Пропионовокислое брожение осуществляют бактерии семейства *Propionibacteriaceae*, куда относится род *Propionibacterium*.

Бактерии рода *Propionibacterium* представляют собой грамположительные неподвижные палочки, обычно полиморфные, образующие булабовидные формы с одним закругленным концом, другим — конусообразным. Могут быть удлинненными, кокковидными, раздвоенными, разветвленными. Располагаются поодиночке, парами, цепочками, группами и т. д. Спор не образуют. Они относятся к анаэробам, но могут развиваться в условиях низкого парциального давления кислорода. Источниками энергии для них служат углеводы, органические кислоты, спирты и другие вещества.

В качестве продуктов брожения углеводов пропионовокислые бактерии могут продуцировать различные комбинации пропионовой и уксусной кислот и часто меньшие количества изовалериановой, муравьиной, янтарной или молочной кислот и CO_2 . Пропионовокислые бактерии способны сбрасывать молочную кислоту, образовавшуюся в результате брожения под действием других бактерий, превращая ее в пропионовую и уксусную кислоты.

Пропионовокислым бактериям принадлежит значительная роль, в частности, в созревании сычужных сыров. После окончания молочнокислого брожения лактозы в созревающем сыре следует стадия пропионовокислого брожения, сопровождающаяся сбраживанием молочной кислоты в уксусную и пропионовую, придающие острый вкус сырам, а образуемая пропионовокислыми бактериями углекислота обуславливает появление «рисунка» сыра, то есть глазков.

Маслянокислое брожение.

Типичный представитель масляно-кислых бактерий — *Clostridium butyricum*. Это крупная палочка (1—2х10 мкм), в молодом состоянии она подвижна. На более поздних стадиях развития теряет жгутики, приобретает веретенооб-разную форму и накапливает внутри клетки запасное питательное вещество — полисахарид гранулезу. *Cl. butyricum* образует веретенообразные споры (иногда они имеют форму барабанной палочки). В качестве источника углерода маслянокислые бактерии могут использовать моно- и дисахариды, некоторые полисахариды (декстрин, крахмал), молочную и пировиноградную кислоты, маннит, глицерин и другие соединения. В сложных белковых средах в отсутствие сбраживаемого углевода маслянокислые бактерии плохо растут или вообще не растут. Источником азота служат разнообразные вещества — аминокислоты, аммиачные соединения и даже молекулярный азот.

Среди маслянокислых бактерий есть мезофильные и термофильные формы.

Род *Clostridium* имеет патогенные и сапрофитные формы. К сапрофитным маслянокислым бактериям относятся *Cl. pasteurianum*, *Cl. butyricum*, *Cl. felsineum*; к патогенным — *Cl. botulinum*, *Cl. tetani*, *Cl. perfringens* и другие. Сапрофитные и патогенные формы широко распространены в почвах и других естественных субстратах.

Маслянокислое брожение иногда бывает нежелательным. Например, при его развитии в заквашиваемых кормах белковая часть корма разлагается, а накопившаяся масляная кислота придает ему неприятный запах, маслянокислые бактерии могут вызывать бомбаж консервов при нарушении технологии их приготовления.

Вместе с тем масляная кислота требуется для некоторых промышленных целей. Ее получают на заводах, сбраживая специально подготовленные среды чистой культурой маслянокислых бактерий. Образовавшуюся кислоту отделяют и очищают химическим методом.

Уксуснокислое брожение

Этиловый спирт окисляется до уксусной кислоты под влиянием уксуснокислых бактерий, относящихся к родам *Gluconobacter* и *Acetobacter*. Это грамотрицательные хемоорганогетеротрофные, не образующие спор, палочковидные организмы, подвижные или не-подвижные.

Два рода уксуснокислых бактерий различаются между собой по характеру жгутикования клеток. У представителей рода *Gluconobacter* клетки движутся при помощи 3—8 полярных жгутиков, редко одного, или неподвижные. Бактерии рода *Acetobacter* движутся при помощи перитрихиальных жгутиков или неподвижные.

Уксуснокислые бактерии —строгие аэробы, поэтому они развиваются только на поверхности среды, и для них весьма характерно образование пленок. Одни виды этих организмов образуют тонкие пленки, состоящие лишь из одного слоя клеток, другие формируют пленки более толстые, иногда напоминающие папи-росную бумагу. Некоторые уксуснокислые бактерии дают пленки слизистые, толстые. Уксуснокислые бактерии отличаются высокой устойчивостью к кислотам (могут расти в среде с

начальным рН 4, оптимум рН 5—6). Эти бактерии обнаруживают на поверхности растений (цветков, плодов), на разлагающихся растительных остатках и т. д.

Характерная особенность уксуснокислых бактерий — их способность превращать этиловый спирт в уксусную кислоту.

Кроме указанных окислительных процессов, уксуснокислые бактерии могут вызывать окисление сорбита до сорбозы, маннита до фруктозы, глюкозы до глюконовой кислоты, глюконовой кислоты до кетоглюконовых кислот. Уксуснокислых бактерий используют для производства пищевого уксуса из вина и спирта.

Окисление углеводов до лимонной кислоты и некоторых других органических кислот

При рассмотрении процессов дыхания и брожения было отмечено, что некоторые микроорганизмы не полностью окисляют те или иные органические соединения. В этом случае происходит накопление продуктов неполного окисления — щавелевой, лимонной, янтарной, фумаровой, яблочной, аконитовой, глюконовой и других кислот. Подобные процессы часто вызываются грибами.

Грибы родов *Rhizopus* и *Mucor* образуют из углеводов главным образом молочную кислоту и в небольших количествах янтарную, фумаровую, яблочную, уксусную и муравьиную кислоты, а также этиловый спирт, а представители родов *Aspergillus* и *Penicillium* — глюконовую, щавелевую и лимонную кислоты.

Большое практическое значение имеет получение лимонной кислоты микробиологическим путем из углеводов с использованием гриба *Aspergillus niger*, превращающего почти 60% глюкозы в лимонную кислоту. В настоящее время промышленным способом с помощью *Aspergillus niger* вырабатывают лимонную кислоту, весьма необходимую в медицине, кондитерской промышленности, а также используемую в небольшом количестве для других целей (серебрение, печатное дело и т. д.).

В процессе окисления глюкозы наряду с лимонной всегда образуется глюконовая кислота, причем ее количество зависит от штамма гриба и от рН среды. Образуются также щавелевая и янтарная кислоты.

В последнее время разработан способ получения лимонной кислоты из углеводов.

Брожение клетчатки

При аэробном разложении целлюлозы из образовавшейся глюкозы в основном получают два продукта — CO_2 и H_2O . Могут накапливаться и небольшие количества органических кислот. Возбудители — бактерии из рода *Cellulomonas*, единичные виды *Pseudomonas*, *Vibrio* и *Bacillus*, актиномицеты и грибы, миксобактерии, бактерии рода *Cytophaga*.

При анаэробном распаде целлюлозы первоначальный продукт ее гидролиза — глюкоза в дальнейшем подвергается сбраживанию, в результате чего образуется много органических веществ, состав которых несколько различен у отдельных культур микроорганизмов. Возбудители — бактерии из рода *Clostridium*.

Разложение жиров

Жиры и жирные кислоты подвергаются трансформации под влиянием микроорганизмов. Первая стадия расщепления жира — гидролиз, осуществляемый ферментом липазой. Подобным образом происходит разрушение жиров и другого химического состава. Образующиеся в результате гидролиза глицерин и жирные кислоты претерпевают дальнейшие превращения вплоть до полного окисления, высокомолекулярные жирные кислоты труднорастворимы и окисляются очень медленно.

Жиры входят в состав всех растительных и животных клеток, причем некоторые ткани и органы особенно богаты этими соединениями. Как и другие составные части тканей, жиры расщепляются микроорганизмами почвы. Многие аэробные и анаэробные бактерии и грибы известны как разрушители жиров.

Наиболее энергично разрушает жиры *Pseudomonas fluorescens* — бесспорная подвижная палочка, образующая на питательной среде зеленоватый пигмент. В разложении жира также участвуют *Pseudomonas pyocyanea*, *Serratia marcescens*, представители родов *Bacillus* (*Bac. mycoides*, *Bac. mesentericus*) и *Clostridium* (*Cl. perfringens*, *Cl. sporogenes* и др.) и многие другие микроорганизмы. Эти организмы не только разлагают жир на глицерин и жирные кислоты, но и окисляют последние до CO_2 и H_2O . В разложении жира и жирных кислот принимают участие такие грибы, как *Oidium lactis*, плесневые грибы родов *Aspergillus* и *Penicillium* и др.

6.2. Круговорот азота

Процессы непрерывного разрушения и синтеза азотсодержащих веществ лежат в основе круговорота азота в природе. При круговороте азота наблюдаются следующие биохимические процессы:

Гниение — процесс глубокого расщепления белка под действием ферментов гнилостных микроорганизмов. Степень расщепления белковых веществ и направление гнилостного процесса обусловлен видом микробов и условиями их жизнедеятельности.

При гниении происходит гидролитическое расщепление белка — *аммонификация*. Белки могут разлагаться аэробными и анаэробными бактериями, актиномицетами, грибами. Особенно активны в этом отношении представители семейства *Pseudomonadaceae* рода *Pseudomonas* (*Pseudomonas fluorescens*, *Ps. aeruginosa*), семейства *Bacillaceae* рода *Bacillus* (*Bacillus mycoides*, *Bac. cereus*, *Bac. subtilis*) и рода *Clostridium* (*Cl. sporogenes*, *Cl. putrificus*), семейства *Enterobacteriaceae* рода *Proteus* (*Proteus vulgaris*) и др.

В анаэробных условиях при распаде белка образуются аммиак, амины, CO_2 , органические кислоты (жирные и ароматические — бензойная, ферулиновая и др.), меркаптаны, а также индол, скатол и сероводород, обладающие неприятным запахом. При анаэробном разрушении белков могут образоваться токсические соединения, в частности первичные амины (диамины)-или птомаины, к числу которых относится кадаверин. Накапливающиеся в анаэробных условиях в почве продукты разложения белков обладают фитотоксическими свойствами и нередко вызывают угнетение роста растений и снижение их урожайности.

При аэробном распаде белка основные конечные продукты этого процесса: CO_2 , аммиак, сульфаты и вода. Такой процесс называется *тлением*.

Гнилостные процессы играют важную санитарную роль в естественной очистке почвы и воды. Гнилостные процессы используют в промышленности при выделке кож. Однако, под влиянием гнилостных процессов происходит порча пищевых продуктов.

Разложение мочевины — многие бактерии и грибы имеют уреазу и могут использовать мочевину в качестве источника азота для синтеза белков. Обычно бактерии, разлагающие мочевину, называются уробактериями. Эти бактерии могут развиваться при высокой щелочности среды (pH 9—10), что позволяет им вызывать распад значительных количеств мочевины до аммиака. Из специфических уробактерий отметим *Micrococcus urea* из семейства *Micrococcaceae* рода *Micrococcus*, *Bacillus pasteurii* из семейства *Bacillaceae* рода *Bacillus*, *Sporosarcina urea* и другие из рода *Sporosarcina*.

Физиологический смысл распада мочевины, по-видимому, сводится к переводу аминной формы азота в более легкоусвояемую аммиачную.

Нитрификация - аммиак, образующийся в почве, навозе и воде при разложении органических веществ, довольно быстро окисляется до азотистой, а затем азотной кислоты. Бактерии первой фазы нитрификации представлены пятью родами: *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrospira*, *Nitrosolobus* и *Nitrosovibrio*. Вторую фазу нитрификации осуществляют представители родов *Nitrobacter*, *Nitrospira* и *Nitrococcus*. Наибольшее число исследований проведено с *Nitrobacter winogradskii*, однако описаны и другие виды (*Nitrobacter agilis* и др.).

Денитрификация - в почве совершается ряд процессов, в результате которых окисленные формы азота (нитраты, нитриты) восстанавливаются до окислов азота или молекулярного азота. Это приводит к существенным потерям из почвы ценных для растений соединений. Восстановление нитратов и нитритов до газообразных азотных соединений происходит в результате процессов прямой и косвенной денитрификации. Под прямой денитрификацией подразумевают биологическое восстановление нитратов, а под косвенной — химическое восстановление нитратов. Прямая, или биологическая, денитрификация, в свою очередь, расчленяется на ассимиляторную и диссимиляторную денитрификацию.

При ассимиляторной денитрификации нитраты восстанавливаются до NH_3 , который служит источником азота для построения клеточных веществ. К указанной денитрификации способны растения и многие микроорганизмы. В процессах диссимиляторной денитрификации нитраты используются в качестве окислителя органических веществ вместо молекулярного кислорода, что обеспечивает микроорганизмы необходимой энергией. Эти энергетические процессы называются нитратным дыханием.

Способностью диссимиляторной денитрификации обладают только специфические факультативно-анаэробные бактерии. В почве преобладают роды денитрификаторов *Pseudomonas* и *Paracoccus* (*Pseudomonas aeruginosa*, *Ps. fluorescens*, *Ps. stutzeri*, *Paracoccus denitrificans*).

Помимо отмеченных мезофильных микроорганизмов, денитрификацию могут вызывать и термофильные бактерии, развивающиеся при температуре 55—65°C. Это спорообразующие бактерии, относящиеся к роду *Bacillus*.

Фиксация атмосферного азота. Запасы газообразного азота в атмосфере практически неисчерпаемы. Над 1 км² земной поверхности в воздухе содержится около 8 млн. т азота, но этим огромным фондом азота не могут воспользоваться ни растения, которым необходим азот минеральных соединений, ни животные, потребляющие азот в форме органических соединений.

Однако существуют азотфиксирующие микроорганизмы, способные питаться молекулярным азотом и строить из него все разнообразие азотсодержащих органических соединений своей клетки. Эти микроорганизмы свободно живут в почве или находятся в симбиозе с растениями. Азотфиксирующие микроорганизмы обуславливают повышение плодородия почвы. К настоящему времени установлено, что многие свободноживущие бактерии — представители около 30 видов — могут фиксировать молекулярный азот. Из них наибольшее значение в фиксации азота имеет семейство *Azotobacteriaceae*, а из анаэробных азотфиксаторов довольно хорошо изучены представители рода *Clostridium* (*Clostridium pasteurianum*).

Вопросы для самоконтроля

1. Какие микроорганизмы составляют микрофлору почвы?
2. Почему воздух является неблагоприятной средой для развития микроорганизмов?
3. Что является основным источником загрязнения микрофлорой водоемов?
4. Перечислите микрофлору тела животного?
5. Чем отличается гомоферментативное молочнокислое брожение от гетероферментативного?
6. Кто является возбудителем спиртового брожения?
7. Какое значение имеет маслянокислое и пропионовокислое брожение?
8. Какие биохимические процессы наблюдаются при круговороте азота?

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. Госманов, Р.Г. Микробиология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.К. Галиуллин, А.Х. Волков, А.И. Ибрагимова. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2017. — 496 с. — Режим доступа: <https://e.lanbook.com/book/91076>
2. Госманов, Р.Г. Микробиология и иммунология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.И. Ибрагимова, А.К. Галиуллин. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2013. — 240 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/12976>.
3. Колычев, Н.М. Ветеринарная микробиология и микология. [Электронный ресурс] / Н.М. Колычев, Р.Г. Госманов. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2014. — 624 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/39147>

Дополнительная

- 1 Ветеринарная микробиология и иммунология : учебник / Г. В. Дунаев, Н. М. Колычев, Н. А. Радчук ; ред. Н. А. Радчук. - М. : Агропромиздат, 1991. - 383 с. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 5-10-001805-4;

Лекция № 7

ГЕНЕТИКА МИКРООРГАНИЗМОВ.

7.1 ДНК бактерий

Прокариоты (бактерии) в отличие от микроскопических грибов не имеют морфологически обособленного ядра, а генетическая информация заключена в нуклеоиде и внехромосомных факторах наследственности – плаزمидах. Нуклеоид состоит из одной свернутой в клубок хромосомы, которая свободно располагается в цитоплазме, но связана с определенными рецепторами на цитоплазматической мембране. Поэтому бактериальная клетка, в отличие от эукариот, гаплоидна, то есть содержит один набор генов.

В отличие от всех других организмов бактерии обладают уникальным свойством изменять массу своей ДНК, регулируя в зависимости от условий обитания содержание копий своих генов. Это позволяет бактериям регулировать скорость собственного размножения, обеспечивает выживание в окружающей среде, а, следовательно, и сохранение вида в природе.

Бактериальная хромосома представляет собой двуцепочечную молекулу ДНК (кольцевую хромосому), содержащую гены, расположенные в линейном порядке. Поскольку длина хромосомы (у *E. coli* около 1000 мкм) во много раз превышает длину бактерии (1,5—3,0 мкм в среднем), хромосома компактно упакована в суперспирализованной форме в виде 12—80 петель, связанных с сердцевинной структурой.

Геном (совокупность нуклеотидов, содержащихся в хромосоме) и генотип (совокупность индивидуальных генов) у бактерий не однозначны, но близки, так как большинство генов содержится в хромосоме в единственном числе, в отличие от эукариот, содержащих до 30—50 % повторяющихся последовательностей нуклеотидов в геноме. Поэтому размеры геномов у бактерий, вирусов, плазмид выражаются либо в молекулярной массе, либо количеством нуклеотидных пар геномной нуклеиновой кислоты, либо количеством генов. Эти значения сопоставимы, так как в среднем каждый ген состоит из 1000 пар нуклеотидов, а масса одного нуклеотида ДНК — 500 дальтон. Так, хромосома *E. coli* имеет молекулярную массу $2,8 \times 10^9$ дальтон, количество нуклеотидных пар равно $3,8 \times 10^6$ и содержит 2500-3000 генов.

Хромосома бактерии состоит из двух типов генов: *структурных* (цистронов), кодирующих синтез определенной полипептидной цепи, и *регуляторных* (или акцепторных), регулирующих активность генов (регуляторы, операторы, промоторы, аттенуаторы, терминаторы и др.). Основной структурно-функциональной единицей хромосомы является *оперон*. Это группа структурных генов-цистронов, физически сцепленных друг с другом и с геном-оператором, который управляет их выражением. В свою очередь, оперон или их группа находятся под управлением одного гена-регулятора и представляют более сложную структурно-функциональную единицу — *регулон*.

Гены в хромосоме располагаются линейно, поэтому можно изучать их последовательность и составлять хромосомную (генетическую) карту. Для этого устанавливают время переноса соответствующих генов при конъюгации бактерий. Локализацию генов на хромосоме определяют по времени их переноса, в частности, у кишечной палочки оно составляет от 0 до 100 мин.

В настоящее время основным методом изучения организации геномов микроорганизмов является *секвенирование* — определение последовательности расположения нуклеотидов в

составе ДНК генов. Предварительно с помощью методики клонирования получают большое количество необходимых фрагментов ДНК.

Некоторые гены и группы генов хромосомы бактерий и плазмид бактерий относятся к транспонируемым генетическим элементам, то есть генетическим структурам, способным перемещаться внутри данного генома или переходить от одного генома к другому, например от плазмидного к бактериальному и наоборот. Транспонируемые генетические элементы представлены *IS-элементами* и *транспозонами*. *IS-элементы*, или *вставочные последовательности* (от англ. insertion sequence), имеют обычно небольшие размеры, не превышающие двух тысяч пар оснований. Они несут только один ген, кодирующий белок транспозазу, с помощью которой IS-элементы встраиваются в различные участки хромосомы. Их обозначают: IS1, IS2, IS3 и т. д.

Транспозоны (Tn) представляют собой более крупные сегменты ДНК. Они способны встраиваться в различные участки хромосомы или переходить от одного генома к другому. Очень часто транспозоны содержатся в составе R-плазмид. Транспозоны обнаружены также в составе геномов бактерий, плазмид, вирусов. Им принадлежит важная роль в изменчивости и эволюции живой материи. Обозначают транспозоны порядковым номером: Tn1, Tn2, Tn3 и т. д.

7.2. Передача и реализация наследственной информации

Передача генетической информации

Передача генетической информации потомству (вегетативная репликация ДНК) осуществляется у бактерий и плазмид по универсальному механизму — полуконсервативной репликацией ДНК. При этом дочерние клетки получают ДНК хромосомы, у которой одна нить родительская (консервативная), другая нить ДНК вновь синтезирована на ее матрице, что обеспечивает очень точную передачу генетической информации (наследственность). Вегетативная репликация ДНК у бактерий начинается со строго фиксированного сайта хромосомы (*oriC*), который распознается ферментами, иницирующими репликацию. Она происходит одновременно в двух направлениях и заканчивается в строго фиксированной точке — *terminus*. Поскольку цепи ДНК непараллельны (если одна нить начинается с 5-го конца, то другая — с 3-го конца), а ДНК-полимераза III синтезирует ДНК только в направлении 5—3, репликация происходит на каждой нити по-разному: на одной из расплетенных нитей («прямой», «лидерной») она идет непрерывно, а на другой («отстающей») должна возвращаться, чтобы наращивать нить тоже в направлении 5-3, прерывисто, через образование сегментов Оказаки длиной около 1000 нуклеотидов у бактерий.

Каждый сегмент Оказаки синтезируется, проходя последовательно через следующие стадии:

- раскручивание нитей ДНК;
- расплетение (разделение) нитей;
- стабилизация одностранных участков;
- формирование мультиферментного комплекса праймосомы;
- синтез с участием ДНК-праймазы затравочной РНК (фрагменты РНК до 10 нуклеотидов, комплементарные ДНК-матрице);
 - синтез сегмента Оказаки;
 - вырезание затравочной РНК и замещение ее дезоксирибонуклеотидами, комплементарными основаниям ДНК-матрицы;
 - сшивание сегмента Оказаки с предшествующей нитью ДНК с помощью лигазы;
 - суперспирализация вновь синтезированных участков ДНК.

Реализация наследственной информации

Совокупность расположенных рядом структурных и регуляторных генов составляет оперон-единицу генетической регуляции. Классической моделью оперона является лактозный оперон, регулирующий активность структурных генов, кодирующих синтез ферментов, участвующих в усвоении лактозы.

Начинается оперон с «участка прикрепления белка-активатора» — продукта вышестоящего регулона (Сар-белка, без которого РНК-полимераза не может связаться с опероном и начать транскрипцию). Далее на хромосоме расположен *промотор* — участок распознавания РНК-полимеразой и прикрепления ее, затем следует *оператор* — участок, с которым связывается особый тормозящий транскрипцию белок-регулятор. После оператора расположены последовательно структурные гены *z*, *y*, *a*, кодирующие соответственно

синтез трех ферментов, участвующих в усвоении лактозы: Р-галактозидазы, р-галактозидпермеазы и гиогалактозидтрансацилазы. Заканчивается *lac*-оперон *терминатором* — небольшим участком ДНК, служащим стоп-сигналом, прекращающим продвижение РНК-полимеразы и транскрипцию оперона. Вне *lac*-оперона, на другом месте хромосомы находится особый ген-регулятор, кодирующий непрерывный синтез белка-регулятора.

Когда в окружающей среде нет лактозы, белок-регулятор прикрепляется к оперону и препятствует продвижению РНК-полимеразы от промотора к структурным генам, подавляя транскрипцию и, в конечном итоге, синтез ферментов. Лактоза, присутствующая в питательной среде, связывается с белком-регулятором, изменяя его конфигурацию, в результате чего белок-регулятор уже не может прикрепляться к оператору. В итоге «шлагбаум» открыт и РНК-полимераза транскрибирует структурные гены в соответствующие мРНК, на матрице которых синтезируются ферменты, усваивающие лактозу.

Таким образом, лактоза индуцирует синтез ферментов, нужных для ее усвоения. Такие ферменты называются адаптивными, или индуктивными. Рассмотренный тип регуляции активности генов называется негативным, так как в его основе лежит репрессия оперона белком-регулятором. Есть два варианта этого типа регуляции: негативная индукция, которую мы рассмотрели, и негативная репрессия.

В последнем случае в исходном положении белок-регулятор не может связываться с оператором и синтез ферментов идет, а при наличии эффектора, обычно конечного продукта действия анаболических ферментов, белок-регулятор под его воздействием связывается с оператором и синтез ферментов подавляется. Кроме негативного известен также позитивный тип генетической регуляции синтеза белка. Отличие его от негативного типа заключается в том, что белковый продукт гена-регулятора не исключает транскрипции оперона, а, наоборот, активирует ее.

7.3. Изменчивость, ее формы и механизмы

Ненаследственная (модификационная) изменчивость

Проявление признаков живых организмов, контролируемых генотипом, зависит от условий существования организма. Совокупность признаков организма в конкретных условиях его существования называется фенотипом. В зависимости от условий микроорганизмы одного генотипа могут иметь различные фенотипы, так как реализуется различная часть генетической информации генотипа или реализация происходит в различном диапазоне нормы реакции генотипа. Смена фенотипов при смене условий существования организма называется *модификацией*. Иными словами, модификации — это фенотипические различия, вызываемые внешними факторами у микроорганизмов с одинаковой наследственностью. Отличительными признаками модификации у бактерий являются:

- определенность изменчивости (определенный фактор внешней среды, условий вызывает изменение строго определенного признака);
- общность изменений (изменения признака одновременно у всех или большинства особей генетически однородной популяции);
- обратимость изменений (изменения не наследуются и после прекращения действия внешнего фактора исчезают).

Возможность модификационной изменчивости бактерий следует постоянно учитывать в практической работе микробиолога. Для точной систематики и идентификации бактерий следует строго соблюдать стандартные (унифицированные) условия изучения их свойств (питательные среды, тесты, реактивы, температуру и другие условия культивирования).

Наследственная (мутационная) изменчивость

Первоисточником новых генов в природе является *мутация* — изменение генетических структур, имеющих в клетке в данный момент, которое стабильно наследуется. Различают две группы мутаций: *хромосомные aberrации*, включающие себя три типа (изменение числа наборов хромосом, изменение числа отдельных хромосом, перестройки хромосом), и *генные мутации*.

Перестройки хромосом осуществляются путем делений (выпадения фрагмента хромосомы), инверсии (поворота участка хромосомы на 180°), транспозиций (вставок в какое-либо место хромосом небольших фрагментов ДНК, например инсерционных сегментов или транспозонов).

Генные мутации бывают односайтовые (в одном участке гена) и многосайтовые. Для появления мутации в гене достаточно точечного изменения одной пары нуклеотидов. По направлению мутации делятся на *прямые* и *обратные*. Прямые мутации вызывают изменения признаков организма дикого типа; обратные мутации сопровождаются реверсией к дикому типу. Восстановление исходного фенотипа в результате обратной мутации в ином участке гена или в другом гене является *супрессорной* мутацией. Мутация, в результате которой изменяются два и более признаков организма, называется *плейотропной*. Различают также *спонтанные* и *индуцированные* мутации. Спонтанные мутации возникают самопроизвольно в том смысле, что они детерминированы, но мы не знаем конкретно их причин. Индуцированные мутации вызываются воздействием определенных мутагенных факторов. К ним относятся различные виды ионизирующих излучений, ультрафиолетовые лучи, химические мутагены.

7.4. Рекомбинация у бактерий

Другим механизмом наследственной изменчивости является обмен генетическим материалом между клетками популяций бактерий (по горизонтали). Он не создает новых элементарных признаков, но ускоряет создание организмов с новыми комбинациями признаков за счет перераспределения генов из разных геномов, способствуя быстрому приспособлению бактерий к условиям среды. Различные виды и роды бактерий способны к широкому генетическому обмену между собой, а также с бактериофагами и плазмидами.

У бактерий выявлены три основные формы обмена генетическим материалом: трансформация, трансдукция, конъюгация. Они различаются способом передачи генетического материала.

Под *трансформацией* подразумевают процесс передачи клетке-реципиенту некоторых генов донора с помощью свободной ДНК, выделенной из генома донора. Трансформация может быть спонтанной или индуцированной. Спонтанная трансформация в естественных условиях проявляется в появлении рекомбинантов при смешивании генетически

различающихся клеток. Она протекает за счет ДНК, выделяющейся клетками в окружающую среду при их разрушении или в результате активного выделения ДНК жизнеспособными клетками-донорами. Индуцированная (искусственная) трансформация происходит при добавлении к культуре бактерий очищенной ДНК, полученной из бактерий-доноров. ДНК должна быть двуцепочечной, иметь фрагменты массой $3\text{—}5 \times 10^6$ Д, быть частично или полностью гомологичной ДНК реципиента. Клетки реципиента должны обладать компетентностью, то есть восприимчивостью, что имеет место только в определенный период жизненного цикла и обусловлено выделением клеткой особого белка «фактора компетентности» и специфическим изменением проницаемости клеточной стенки и мембраны. В естественных условиях эффективность трансформации менее существенна по сравнению с ярусами формами передачи генетического материала.

Трансдукция — перенос генетического материала от клетки-донора клетке-реципиенту с помощью бактериофага, которые включают в свой геном вместо фаговой ДНК фрагмент бактериальной ДНК, равной по длине фаговой. Так возникают дефектные фаги. Такие фаги сохраняют инфекционные свойства. Они адсорбируются на бактериальной клетке, вводят в нее ДНК, но при этом размножения фага не происходит. В случае генетической рекомбинации привнесенного фагом фрагмента ДНК донора с хромосомой клетки-реципиента новый признак наследственно закрепляется. Таким образом, при общей трансдукции фаг является только пассивным переносчиком генетического материала. Специфическую трансдукцию отличает перенос строго определенного фрагмента ДНК бактерии-донора умеренными бактериофагами. Как известно, умеренными называют такие бактериофаги, которые могут интегрировать в хромосому клетки бактерий, вызывая ее лизогенизацию. Под термином «лизогенизация» следует понимать способность различных штаммов бактерий, содержащих бактериофаги, лизировать, или растворять, другие штаммы бактерий, при этом не разрушаясь. Интегрированный в хромосому бактерии-донора умеренный фаг (профаг) в определенных условиях выходит из хромосомы, захватывая ближайшие участки ДНК хромосомы бактерии и оставляя часть своего генома. Возникает дефектный умеренный фаг, включивший в свой геном бактериальные гены бактерии-донора. Далее трансдуцирующий фаг вносит свою ДНК в клетку бактерии-реципиента, где она вместе с фрагментом ДНК бактерии-донора интегрируется в состав хромосомы реципиента. Впоследствии фаг может выйти из хромосомы реципиента, но переданные им гены бактерии-донора остаются у реципиента.

Конъюгация характеризуется переносом генетического материала путем непосредственного контакта между клетками. Этот процесс полярен — генетический материал передается только от бактерий-доноров к бактериям-реципиентам. Донорская функция клетки и процесс конъюгации контролируются генами конъюгационного переноса (tra-оперон), локализованными в конъюгативных плаزمидах. Среди многих конъюгативных плазмид имеется плазида F, контролирующая только указанные функции. В автономном, внехромосомном, состоянии она обеспечивает донорский тип клетки F⁺ (мужская), образование полых ворсинок (F-пили) и свой собственный перенос в F⁻ (женские) клетки реципиента. При этом хромосома донора не передается, а реципиенты, получившие плазмиду F, приобретают донорский тип F⁺.

7.5. Плазмиды

У многих бактерий генетическая информация может находиться помимо хромосом в особых дополнительных генетических структурах — плаزمидах. Плазида представляет собой экстрахромосомный генетический элемент, который стабильно наследуется в экстрахромосомном состоянии. Первую плазмиду F-фактор (фактор колициногенности)

обнаружил у *E. coli* в 1925 г. А. Грация. В 1953 г. У. Хейс открыл половую плазмиду, контролирующую конъюгацию у бактерий; в 1963 г. Т. Ватанабе описал R-фактор - плазмиду, контролирующую лекарственную резистентность бактерий. Некоторые ученые относят плазмиды к живым организмам — особому классу вирусов.

Все известные плазмиды представляют собой небольшие, ковалентно-замкнутые в кольцо суперспирализованные молекулы двунитевой ДНК, размеры которых варьируют от 1,5 до 200 МД (от 1500 до 400 000 пар нуклеотидов). Чем больше молекулярная масса, тем сложнее набор генов и многообразнее функции плазмид. Плазмиды содержат гены саморепликации; гены, контролирующие самоперенос или мобилизацию на перенос; другие гены, определяющие специфические функции самой плазмиды.

Плазмиды распространяются среди бактерий двумя способами:

по вертикали — путем передачи от родительской клетки дочерним клеткам в процессе клеточного деления бактерий ;

по горизонтали — путем переноса между клетками в популяции бактерий независимо от клеточного деления.

Между бактериальными клетками плазмиды переносятся путем конъюгации, контролируемой *tra*-опероном плазмиды. В зависимости от наличия этого оперона плазмиды подразделяют на *конъюгативные* и *неконъюгативные*.

Классификация плазмид основана на их уникальном свойстве несовместимости, т. е. неспособности родственных плазмид стабильно сосуществовать в одной клетке. Она проявляется после проникновения плазмиды в клетку, уже содержащую близкородственную ей плазмиду. Плазмиды, не совместимые друг с другом, но совместимые с другими, объединяются в одну Inc-группу. Например, у энтеробактерий обнаружены 39 Inc-групп плазмид. Плазмиды, относящиеся к одной Inc-группе, обладают многими общими признаками.

Плазмиды имеют важное значение, так как контролируют синтез различных факторов патогенности бактерий и их лекарственной резистентности. Общебиологическое значение плазмид состоит в том, что они являются уникальным средством самозащиты бактерий и способствуют сохранению их в природе.

Вопросы для самоконтроля

1. Строение бактериальной хромосомы.
2. Понятие о наследственности и изменчивости.
3. Формы изменчивости у бактерий.
4. Генетический код и его свойства.
5. Передача и реализация наследственной информации.
6. Понятие «оперон», особенности его работы.
7. Понятие о геноме, генотипе и фенотипе. Хромосомные детерминанты, контролирующие основные свойства микроорганизмов.
8. Плазмиды - внехромосомные факторы наследственности, их роль в жизни бактериальной клетки.
9. Мутации у микробов, спонтанные и индуцированные.
10. Трансформация, трансдукция и конъюгация, понятие, механизмы реализации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. Госманов, Р.Г. Микробиология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.К. Галиуллин, А.Х. Волков, А.И. Ибрагимова. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2017. — 496 с. — Режим доступа: <https://e.lanbook.com/book/91076>

2. Госманов, Р.Г. Микробиология и иммунология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.И. Ибрагимова, А.К. Галиуллин. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2013. — 240 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/12976>.
3. Колычев, Н.М. Ветеринарная микробиология и микология. [Электронный ресурс] / Н.М. Колычев, Р.Г. Госманов. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2014. — 624 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/39147>

Дополнительная

1. Ветеринарная микробиология и иммунология : учебник / Г. В. Дунаев, Н. М. Колычев, Н. А. Радчук ; ред. Н. А. Радчук. - М. : Агропромиздат, 1991. - 383 с. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 5-10-001805-4;

Лекция №8

САНИТАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ. ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ.

8.1. Санитарная микробиология. Цели и задачи

Для разработки экологически обоснованных мероприятий по оздоровлению внешней среды от биологического загрязнения микроорганизмами и веществами микробного происхождения, а также для изучения влияния микрофлоры внешней среды на здоровье человека была создана самостоятельная профилактическая дисциплина — *санитарная микробиология*, которая изучает микрофлору (микробиоту) окружающей среды и ее вредное влияние на организм человека.

Среди российских ученых, внесших большой вклад в развитие санитарной микробиологии, следует назвать А. А. Миллера, В. И. Теца, Г. Н. Чистовича, И. Е. Минкевича.

Основными задачами санитарной микробиологии являются:

- Гигиеническая и эпидемиологическая оценка объектов внешней среды по микробиологическим показателям.
- Разработка нормативов, определяющих соответствие микрофлоры исследуемых объектов гигиеническим требованиям.
- Разработка и оценка методов микробиологических и вирусологических исследований разнообразных объектов внешней среды с целью оценки санитарно-гигиенического состояния.
- Разработка рекомендаций по оздоровлению объектов внешней среды путем воздействия на их микрофлору и оценка эффективности проводимых мероприятий.
- Изучение закономерностей жизнедеятельности микрофлоры окружающей среды как в самой среде, так и во взаимоотношениях с человеком.

В настоящее время задачи санитарной микробиологии весьма усложнились в связи с тем, что внешняя среда загрязнена биологическими отходами; хозяйственно-бытовыми и сточными водами: отходами животноводческих комплексов; отходами предприятий п: производству антибиотиков, вакцин, сывороток, белков, витаминов ферментов и т. п.

По видовому составу биологическое загрязнение подразделяется на: загрязнение патогенными и условно-патогенными микроорганизмами, цианобактериями и микроорганизмами, предназначенными для борьбы с насекомыми, микроорганизмами — продуцентами вредных веществ; загрязнения биологическими веществами — антибиотиками, белками, ферментами, витаминами, а также поверхностно-активными веществами, широко используемыми в сельском хозяйстве (пестициды, гербициды).

Для каждого вида загрязнения должны быть определены предельные допустимые концентрации, т. е. такие, которые не влияли бы отрицательно на процессы самоочищения внешней среды, не подавляли санитарно-показательные микроорганизмы, не усиливали их патогенные свойства, не удлиняли сроки выживания микроорганизмов, а также не способствовали ухудшению здоровья людей.

Основными объектами санитарно-микробиологического исследования являются вода, воздух, почва, другие объекты внешней среды, а также пищевые продукты, оборудование пищеблоков и т. п.

8.2. Роль почвы, воды и воздуха в распространении и сохранении опасных для животных возбудителей инфекционных болезней бактериальной и грибной природы

Воздух, почва и вода являются возможными источниками распространения и сохранения опасных для животных возбудителей инфекционных болезней бактериальной и грибной природы, инфицирования пищевых продуктов микроорганизмами.

Микробиология воздуха

В атмосферный воздух микроорганизмы попадают главным образом из почвы, а также с растений, от животных, людей. Обычно микроорганизмы содержатся в воздухе вместе с частицами пыли и в мельчайших капельках влаги, находящихся во взвешенном состоянии.

Воздух не является благоприятной средой для развития микроорганизмов, так как в нем отсутствует капельно-жидкая вода. В воздухе микроорганизмы могут сохранять свою жизнеспособность лишь временно, а многие более или менее быстро погибают под влиянием высушивания и солнечной радиации.

Микрофлора воздуха разнообразна по количеству и составу и может существенно изменяться в зависимости от климатических условий, времени года, общесанитарного состояния местности и других факторов. Над морями, горами, ледяными полями Арктики воздух содержит очень мало микробов (единицы в 1 м³). Значительно больше их в воздухе населенных местностей, особенно крупных промышленных городов.

По мере удаления, от населенных мест количество микроорганизмов в воздухе заметно снижается, но жизнеспособные микроорганизмы обнаружены даже в стратосфере, хотя их там очень мало. Зимой в воздухе микробов значительно меньше, чем летом.

Длительно сохраняются в воздухе споры бактерий и грибов, микобактерии туберкулеза, микроорганизмы, содержащие пигменты, которые предохраняют их от неблагоприятного действия солнечного света.

Микробиология почвы

Почва является естественной средой обитания микроорганизмов. Они находят в почве все условия, необходимые для своего развития, пищу, влагу, защиту от губительного влияния прямых солнечных лучей и высушивания.

Микрофлора почвы по количественному и видовому составу значительно колеблется в зависимости от химического состава почвы, ее физических свойств, реакции (рН), влагоемкости, степени аэрации. Существенно влияют также климатические условия, время года, способы сельскохозяйственной обработки почвы, характер растительного покрова и другие факторы.

Неодинаково распространены микроорганизмы и по горизонтам почвы. Меньше всего их обычно содержится в самом поверхностном слое почвы толщиной в несколько миллиметров, где микроорганизмы подвергаются неблагоприятному воздействию солнечного света и высушивания. Особенно обильно населен микроорганизмами следующий слой почвы толщиной до 5—10 см. По мере углубления число микроорганизмов снижается. На глубине 25—30 см количество их в 10—20 раз меньше, чем в поверхностном слое толщиной 1—2 см.

Меняется с глубиной и состав микрофлоры. В верхних слоях почвы, содержащих много органических веществ и подвергающихся хорошей аэрации, преобладают аэробные сапрофиты, способные разлагать сложные органические соединения. Чем глубже почвенные горизонты, тем они беднее органическими веществами; доступ воздуха в них затруднен, поэтому там преобладают анаэробные бактерии.

Микрофлора почвы представлена разнообразными видами бактерий, актиномицетов, грибов, водорослей и простейших животных.

К постоянным обитателям почвы относятся различные гнилостные, преимущественно спороносные, аэробные (*Bacillus subtilis*, *B. cereus* var. *mycoides*, *B. megaterium*) и анаэробные (*Clostridium sporogenes*, *C. putrificum*) бактерии, а также бактерии, разлагающие клетчатку, нитрифицирующие, денитрифицирующие, азотфиксирующие, серо- и железобактерии.

Деятельность почвенных микроорганизмов играет большую роль в создании плодородия почвы. Последовательно сменяя друг друга, микроорганизмы осуществляют процессы круговорота веществ в почве. Органические вещества, попадающие в почву в виде остатков растений, трупов животных и с другими загрязнениями, постепенно минерализуются. Соединения углерода, азота, фосфора и других элементов из недоступных для растений форм преобразуются в усвояемые ими вещества.

Наряду с обычными обитателями почвы встречаются и болезнетворные микроорганизмы, преимущественно спорообразующие бактерии, например возбудители столбняка, газовой гангрены, ботулизма и др.

При санитарной оценке почвы критерием служит титр кишечной палочки и количество сапрофитных бактерий. Также целесообразно определение *C. perfringens* и энтерококков.

Микробиология воды

Природные воды, как и почва, являются естественной средой обитания многих микроорганизмов, где они способны жить, размножаться, участвовать в процессах круговорота углерода, азота, серы, железа и других элементов. Количественный и качественный состав микрофлоры природных вод разнообразен.

Подземные воды. Состав микрофлоры подземных вод (артезианской, ключевой, грунтовой) зависит главным образом от глубины залегания водоносного слоя, его защищенности от попадания загрязнений извне. Артезианские воды, находящиеся на больших глубинах, содержат очень мало микроорганизмов. Подземные воды, добываемые через обычные колодцы из неглубоких водоносных слоев, куда могут просачиваться поверхностные загрязнения, содержат значительное количество бактерий, среди которых могут быть и болезнетворные. Чем ближе к поверхности расположены грунтовые воды, тем обильнее их микрофлора.

Поверхностные воды. Это воды открытых водоемов (рек, озер, водохранилищ и др.). Они отличаются большим разнообразием состава их микрофлоры в зависимости от химического состава воды, характера использования водоема, заселенности прибрежных районов, времени года, метеорологических и других условий. Помимо собственных водных микроорганизмов в открытые водоемы попадает много микроорганизмов извне.

В реке, например, протекающей в районе крупных населенных пунктов или промышленных предприятий, вода может содержать сотни тысяч и миллионы бактерий в 1 см³, а выше этих пунктов — всего лишь сотни или тысячи бактерий.

В воде прибрежной зоны водоемов, особенно стоячих, микроорганизмов больше, чем вдали от берегов. Больше микроорганизмов содержится также в поверхностных слоях воды, но особенно много их в иле, главным образом в его верхнем слое, где образуется как бы пленка из бактерий, играющая большую роль в процессах превращения веществ в водоеме. Значительно возрастает число бактерий в открытых водоемах во время весеннего половодья или после обильных дождей.

Особенно изменяется химический состав воды и ее микрофлора при впуске в водоем хозяйственно-бытовых и промышленных сточных вод. Вместе с различными органическими и минеральными загрязнениями в водоем вносится масса микроорганизмов, среди которых могут попадать и патогенные. Многие из них, например, возбудители кишечных инфекций, длительно (неделями и даже месяцами) сохраняются в воде вирулентными.

8.3. Санитарно-показательные микроорганизмы

Санитарная микробиология располагает двумя методами, с помощью которых можно определить санитарно-эпидемиологическое состояние внешней среды: 1) прямое обнаружение патогенных микроорганизмов во внешней среде и 2) косвенная индикация возможного их присутствия во внешней среде.

Первый метод более надежен и трудоемок, но недостаточно чувствителен. Трудности выделения патогенных микроорганизмов из внешней среды связаны с их незначительной концентрацией, с неравномерностью их распределения во внешней среде, конкуренцией между патогенными микроорганизмами и сапрофитной микрофлорой. Кроме того следует учитывать изменчивость возбудителя во внешней среде, а также необходимость вести исследования в широком диапазоне, в том числе и по обнаружению условно-патогенных микроорганизмов, так как выделение одного возбудителя не свидетельствует об отсутствии других видов. Поэтому прямое выделение патогенных микроорганизмов проводится в основном только по эпидемиологическим показаниям.

Второй метод — косвенной индикации — более прост и доступен. Он позволяет определять санитарно-эпидемиологическую ситуацию по двум критериям: общему микробному числу и концентрации санитарно-показательных микроорганизмов.

Общее микробное число (ОМЧ) — это число всех микроорганизмов в 1 мл (см^3) или в 1 г субстрата. Чем больше микроорганизмов обнаруживается во внешней среде, тем вероятнее загрязнение внешней среды патогенными микроорганизмами, поэтому ОМЧ дает представление и об эпидемиологической обстановке.

Существуют два метода определения ОМЧ:

- оптический метод прямого подсчета бактерий в специальных камерах (метод Горяева) в микроскопе, не позволяющий отличить живые бактерии от мертвых;
- бактериологический метод, позволяющий выявить определенную физиологическую группу бактерий, растущих при данных условиях. Бактериологический метод отличается меньшей точностью.

Критерий ОМЧ имеет большое значение при проведении сравнительных исследований, в этих случаях внезапное повышение ОМЧ является указанием на микробную обсемененность объекта, например, кухонного инвентаря в столовой.

Санитарно-показательные микроорганизмы (СПМО) — это микроорганизмы, которые постоянно обитают в естественных полостях тела человека (животных) и постоянно выделяются во внешнюю среду. Чем выше концентрация СПМО, тем больше вероятность присутствия патогенных микроорганизмов. Их количество выражается в титрах и индексах. Титр — это наименьшее количество субстрата в миллилитрах или граммах, в которых еще обнаруживаются СПМО.

Индекс — то количество СПМО, которое содержится в 1 л воды или в 1 мл субстрата.

Наиболее вероятное число (НВЧ) означает количество СПМО в 1 л для воды или в 1 г (мл) для другого субстрата. Это более точный показатель, вероятность его колебания составляет 95 %.

На роль СПМО определено довольно много микроорганизмов, их можно условно разделить на три группы:

1. Обитатели кишечника человека и животных (индикаторы фекального загрязнения);

2. Обитатели верхних дыхательных путей (индикаторы воздушно-капельного загрязнения);

3. Обитатели внешней среды (индикаторы процессов самоочищения).

Первая группа санитарно-показательных микроорганизмов — это бактерии группы кишечной палочки (БГКП). Следует отметить, что понятие БГКП — утилитарное, санитарно-бактериологическое и экологическое, но не таксономическое. Эта группа представлена микроорганизмами родов *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Klebsiella*, экологические особенности которых определяют их индикаторную значимость. Это граммотрицательные, не образующие спор короткие палочки, сбраживающие глюкозу и лактозу с образованием кислоты и газа при температуре $37 \pm 0,5$ °С в течение 24—48 ч, не обладающие оксидазной активностью.

Род *Escherichia*, включающий вид *E. coli*, является показателем свежего фекального загрязнения и возможной причиной пищевых токсикоинфекций. Среди биохимических тестов, используемых при идентификации, упор делается на способность ферментировать лактозу при температуре $44 \pm 0,5$ °С и отсутствие роста на цитратсодержащих средах. В воде их трактуют как термотолерантные колиформные бактерии, в лечебных грязях — фекальные колиформные бактерии, в пищевых продуктах — *E. coli*

На роль СПМО также был предложен энтерококк (*Enterococcus, faecalis*), поскольку, он постоянно находится в кишечнике человека и постоянно выделяется во внешнюю среду. Для индикации энтерококков разработаны высоко селективные среды. В настоящее время энтерококкометрия узаконена в международном стандарте на воду как показатель свежего фекального загрязнения.

В настоящее время доказано, что в 98 % случаев в выделениях кишечника человека и животных встречается протей, а в 82 % случаев — *Proteus mirabilis*. Обнаружение протей в воде и продуктах свидетельствует о загрязнении объектов разлагающимися субстратами, что говорит о крайнем неблагополучии. Такие пищевые продукты бракуют, а воду не разрешают употреблять для питья. Протеометрия воды официально признана в США.

Следующим СПМО является клостридия *C. perfringens*, имеющаяся в кишечнике животных и человека и сточных водах. Этот микроорганизм способен образовывать споры, поэтому обнаружение его свидетельствует о давнем фекальном загрязнении.

Термофилы — это группа СПМО, в основном спорных, растущих при температуре 55—60 °С, обитает во внешней среде и является показателем загрязнения навозом и компостом. При гниении навоза или компоста температура поднимается более 60 °С, и термофилы бурно размножаются. О степени загрязнения судят по количеству термофилов. В России их определяют при исследовании почвы, объектов внешней среды.

В качестве СПМО используют также бактериофаги кишечной палочки — колифаги. Они обнаруживаются там, где есть соответствующие бактерии, к которым эти фаги адаптированы. Фаги выживают во внешней среде более 9 мес.

Они являются показателем фекального загрязнения, так как выделяются из сточных вод с той же частотой, что и энтеровирусы. По устойчивости к хлору фаги сравнимы с

энтеровирусами. Обнаружение фагов производится по методу Грациа, вычисляют так называемые бляшкообразующие единицы — БОЕ/мл, БОЕ/л.

Вторая группа санитарно-показательных микроорганизмов — это обитатели верхних дыхательных путей. Они служат индикаторами воздушно-капельного загрязнения. К этой группе относят стафилококки и стрептококки.

Третья группа санитарно-показательных микроорганизмов — это бделловибрионы и аэромонады. Бделловибрионы - это аэробные грамотрицательные палочки, подвижные, имеют жгутики. Они поражают только грамотрицательные палочки.

Вопросы для самоконтроля

1. Санитарная микробиология, ее цели и задачи.
2. Видовой состав микрофлоры воздуха, ее источники. Длительность выживаемости микрофлоры в воздухе. Санитарная оценка воздуха в помещении.
3. Роль почвы, воды и воздуха в распространении и сохранении опасных для животных возбудителей инфекционных болезней бактериальной и грибной природы.
4. Видовой состав микрофлоры почвы.
5. Видовой состав микрофлоры естественных водоемов, ее источники. Длительность сохранения в воде патогенных микроорганизмов. Санитарная оценка водоснабжения.
6. Естественные факторы, способствующие самоочищению воды.
7. Какие санитарно-показательные микроорганизмы вы знаете? По каким критериям они были выбраны?
8. Что означает термин «общее микробное число»? Как можно определить этот показатель?
9. Какие микроорганизмы относятся к БГКП?
10. Какие микроорганизмы свидетельствуют о свежем и несвежем микробном загрязнении почвы?

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. Госманов, Р.Г. Микробиология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.К. Галиуллин, А.Х. Волков, А.И. Ибрагимова. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2017. — 496 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/91076>.
2. Госманов, Р.Г. Микробиология и иммунология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.И. Ибрагимова, А.К. Галиуллин. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2013. — 240 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/12976>.
3. Колычев, Н.М. Ветеринарная микробиология и микология. [Электронный ресурс] / Н.М. Колычев, Р.Г. Госманов. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2014. — 624 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/39147>

Дополнительная

1. Ветеринарная микробиология и иммунология : учебник / Г. В. Дунаев, Н. М. Колычев, Н. А. Радчук ; ред. Н. А. Радчук. - М. : Агропромиздат, 1991. - 383 с. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 5-10-001805-4;

Лекция №9. МИКРОФЛОРА ТЕЛА ЖИВОТНЫХ

9.1 Нормальная микрофлора тела животных

Кожа и слизистые оболочки любого животного организма, сообщаемые с внешней средой, заселены микроорганизмами различного видового состава. У каждого животного имеется собственная микрофлора тела, или аутофлора. В здоровом организме встречается микрофлора, которая благоприятствует его существованию. Поэтому такую аутофлору называют нормальной микрофлорой, или нормофлорой.

Общее количество микроорганизмов нормальной микрофлоры во много раз превосходит число собственных клеток хозяина. Сейчас ее рассматривают как самостоятельный орган макроорганизма. На безмикробных животных доказано, что организм может существовать без аутофлоры, но при этом для роста и развития ему необходим тщательно составленный рацион питания, обогащенный витаминами, микроэлементами, аминокислотами. Без аутофлоры это животное абсолютно беззащитно перед всеми микроорганизмами окружающей среды, так как у него не сформированы многие барьеры на пути инфекции.

Нормальная микрофлора обладает следующими характеристиками:

- представлена многими видами микроорганизмов с преобладанием некоторых из них;
- преобладающими являются анаэробы, число которых относится к аэробам и факультативным анаэробам как 10:1 или 100:1;
- состав ее достаточно стабилен;
- она образует биопленку.

Различные условия проживания (в природе или в животноводческих помещениях), соблюдение правил зоогигиены оказывает на микрофлору животного определенное воздействие в плане большего или меньшего их содержания. Имеет значение и особенности питания: травоядное, плотоядное или всеядное животное. Тем не менее, очевидно, общий план строения и функционирования организма теплокровных животных определяют у них одни и те же взаимоотношения макроорганизма с аутофлорой.

Аутомикрофлора тела составляет микробиоценоз, который является единой экологической системой, сохраняющейся за счет непрерывного динамического баланса между макроорганизмом и микроорганизмами.

Аутомикрофлора входит в состав биопленок, создание которых является непременным условием, позволяющим бактериям выживать в макроорганизме.

Роль микрофлоры в жизнедеятельности организма хозяина

Оказалось, что на процессы жизнедеятельности организма различных животных и человека основное, определяющее влияние оказывает микрофлора желудочно-кишечного тракта. В здоровом организме сохраняется динамическое равновесие между отдельными видами микробов в биоценозе и между микробиоценозом в целом и хозяином.

Микробиоценоз кишечника в целом играет двоякую роль в жизнедеятельности макроорганизма. Положительная роль заключена в том, что микробы-симбионты обеспечивают:

- колонизационную резистентность за счет непосредственного нахождения биопленки на поверхностях тела животного, а также выделения органических кислот, сдвигающих рН в кислую сторону. Тем самым подавляется размножение патогенных

микроорганизмов. За эту функцию отвечает выработка ими перекиси водорода, органических кислот, антибиотикоподобных веществ;

- микробиоценоз кишечника обеспечивает газовый состав в его полости и других полостях тела;

- микробы-симбионты ускоряют миграцию эпителия, тем самым способствует его обновлению;

- микробы-симбионты выделяют ферменты, витамины, гормоны, аминокислоты, используемые макроорганизмом;

- микробиоценоз участвует в водно-солевом обмене;

- микробы-симбионты усиливают пищеварительную и моторную функцию желудочно-кишечного тракта;

- микробиоценоз регулирует уровень желчных кислот, холестерина, обеспечивает детоксикацию экзогенных и эндогенно образующихся токсичных для макроорганизма метаболитов;

- микробы-симбионты участвуют в развитии лимфоидной ткани, связанной со слизистыми оболочками, в неспецифической стимуляции иммунокомпетентных клеток и тканей.

Кроме того, микробы-комменсалы, входящие в состав биопленок, активизируют клетки, участвующие в противомикробной защите: НК-клетки и клетки макрофагального ряда. Под влиянием микробного стимула данные клетки вырабатывают цитокины, обладающие противовоспалительным эффектом (ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-11) или провоспалительным, т.е. вызывающим воспаление (ИЛ-1, ИЛ-12, ФНО- α , ИФ- γ). В частности, под влиянием лактобацилл, входящих в состав биопленки кишечника в макрофагах синтезируются и затем выделяются ФНО- α и ИЛ-12, которые обеспечивают природный антибактериальный иммунитет, а в НК-клетках вырабатывается ИФ- γ .

Аутофлора наряду с положительными функциями способна оказывать и негативное влияние на макроорганизм. Она может выделять вещества, которые обладают мутагенным эффектом с развитием раковых заболеваний. Возможна конкуренция с хозяином за питательные вещества.

Негативная роль связана с деятельностью условно-патогенных микроорганизмов, численность которых при определенных состояниях организма хозяина может резко возрасти, и при этом проявиться чувство кворума. Условно-патогенная микрофлора в этом случае может явиться этиологическим фактором гнойно-септических состояний, может стимулировать продукцию больших количеств медиаторов воспаления и увеличение проницаемости слизистых оболочек, в частности кишечной стенки. Медиаторы воспаления способны повышать свертываемость крови и нарушать микроциркуляцию в сосудах. Следствием будет гипоксия, т.е. уменьшение притока кислорода и повреждение тканей.

Антигены условно-патогенных микроорганизмов сенсибилизируют макроорганизм с развитием аллергических реакций, таких как спазм бронхов и дерматозы.

9.2 Микробные биопленки

Образование биопленок начинается сразу после рождения. Вначале к тканям, контактирующим с внешней средой, прикрепляются (адгезируют) единичные микробы за счет пилей адгезии. При благоприятных условиях происходит их размножение и образование небольших по размеру колоний – микроколоний. Одновременно микроорганизмы выделяют комплекс полисахаридов, которые образуют матрикс. Этот матрикс представляет собой губчатый слой в виде плотной сети, состоящий на 97% из

воды. На остальные 3% приходится сухое вещество, включающее полисахариды, белки, нуклеиновые кислоты, фосфаты и сульфаты. Матрикс пронизан каналами, наполненными жидкостью. Постепенно микроколонии оказываются внутри матрикса, на долю которого приходится 85% объема биопленки и удерживаются экзополисахаридами.

У целого ряда бактерий индол является сигнальной молекулой, влияющей на образование биопленки. Он вызывает избыточную экспрессию генов, участвующих в продукции полисахарида, необходимого для образования биопленки. Кроме того он влияет на экспрессию других генов, определяющих подвижность, потребление железа, транспорт ионов.

Напротив, фермент дезоксирибонуклеаза угнетает образование биопленок грампозитивных и грамотрицательных бактерий и усиливает антимикробное действие антибиотиков. Она действует на кооперацию между клетками, разрушая ДНК матрикса биопленок.

Микроколонии со временем сливаются и образуют многослойные структуры. Подавляющее большинство микроорганизмов в биопленках пребывает в покоящемся состоянии. На них практически не действуют защитные силы макроорганизма, дезинфектанты, антибиотики, антисептики, детергенты из-за защитного эффекта матрикса, который является малопроницаемым материалом.

Периодически бактерии в микроколониях делятся и поступают в окружающую среду, в частности, в кровоток, просвет кишечника, дыхательных, мочевыводящих путей. Такие клетки называются планктонными.

В биопленках микробы постоянно и активно общаются между собой посредством выделения сигнальных молекул – низкомолекулярных химических гормоноподобных соединений: ацилированных лактонов гомосерина (АГА) и олигопептидов. АГА выделяют грамотрицательные микроорганизмы, а олигопептиды – грамположительные.

Феномен взаимодействия между бактериями называют «чувством кворума» («quorum-sensing») - QS. Чувство кворума обеспечивает межвидовые и внутривидовые отношения между бактериями, позволяет на популяционном уровне регулировать поведение и отвечать на изменения в окружающей среде. Этот феномен проявляется при достижении определенной плотности популяции, т.е. бактерии ведут себя как многоклеточные организмы.

У грибов также обнаружены соединения, играющие роль аутоиндукторов и выполняющих функцию регуляции поведения при образовании биопленок. Чувство кворума отмечено, например, у кандид.

Все бактерии синтезируют сигнальные молекулы и рецепторные белки, имеют системы для передачи этих сигналов и соответствующие гены-мишени, которые их воспринимают. Чувство кворума регулирует многие процессы жизнедеятельности микробных клеток: симбиоз, вирулентность, компетентность, конъюгацию, образование антибиотиков, споруляцию, формирование биопленок.

Многие бактерии имеют две QS - системы и больше. Ацилированные лактоны гомосерина свободно перемещаются из клетки в клетку, а олигопептиды не способны диффундировать из клетки. Они вначале представляют собой длинные цепи, которые затем расщепляются на более короткие из 8-9 аминокислот фрагменты, модифицируются и только после этого способны выделиться из микробной клетки в окружающую среду. Эти пептиды определяют выделение факторов вирулентности у *S. aureus*, *Enterococcus faecalis*, споруляцию у *Bacillus subtilis*. Они активизировали вирулентность у собственного штамма и подавляли ее во всех других штаммах

бактерий этого же вида. Вследствие этого при смешанной инфекции штаммы, принадлежащие к вирулентному виду, вытесняют все штаммы неvirulentные.

При наличии двух QS – систем у грамотрицательных микроорганизмов одна из них, которая называется «автоиндуктор-1» (АИ-1) обеспечивает внутривидовые контакты, а вторая - «автоиндуктор-2» (АИ-2) - межвидовые. Такие системы есть у *Escherichia coli* и *Salmonella typhimurium*, но у некоторых лабораторных штаммов они отсутствуют. Концентрация АИ-2 достигает наибольшей величины в середине логарифмической фазы и уменьшается при достижении культурой стационарной фазы. За синтез автоиндукторов отвечают определенные гены. Аналогичные гены обнаружены и у бактерий других родов: бацилл, иерсиний, кампилобактера, холерных вибрионов, микобактерий, различных видов стрептококков, т.е. как грамотрицательных, так и грампозитивных.

АИ-2, выделяемый в окружающую среду, может использоваться бактериями в качестве питательного элемента, если другие питательные вещества, например, глюкоза, уже израсходованы при росте бактерий на питательной среде.

Сигнальные молекулы накапливаются в окружающей среде и, когда достигают определенной концентрации, активизируют гены микроорганизмов. При значительном размножении условно-патогенных микробов активизация генов приводит к продукции ими факторов патогенности и, как следствие, - к инфекционному процессу.

У микроскопических грибов, в частности, *Candida albicans*, также обнаружены соединения, играющие роль автоиндукторов и выполняющих функции в регуляции поведения при образовании биопленок.

Системы QS участвуют в передаче сигналов между царствами бактерий и эукариот. Химические соединения, выделяемые микроорганизмами в биопленках, влияют и на клетки макроорганизма, поддерживая или изменяя его физиологические процессы. Эукариоты могут образовывать соединения, взаимодействующие с системами QS бактерий, действуя на них как агонисты или антагонисты. Подобные взаимоотношения бактерий и макроорганизма называются «общением без барьеров».

9.3. Гнотобиотические животные

Роль микробов-комменсалов в жизни макроорганизма и процесс «общения без барьеров» изучены на гнотобиотических животных (гнотобиотах), т.е. животных с известной микрофлорой тела.

Гнотобиоты могут быть безмикробными (стерильными), т.е. полностью свободными от бактерий, грибов, вирусов и простейших. Их получают путем гистеротомии или гистерозектомии, т.е. из полости матки путем ее разрезания или удаления в стерильных условиях. Если гнотобиоты содержат вирусы, тогда их называют безбактериальными.

Таких животных получают при введении препаратов, губительно действующих на бактерии. Стерильно полученных животных можно случайно или специально заразить (контаминировать) какими-либо патогенными или непатогенными микроорганизмами. Таких животных называют гнотофорными.

Безмикробные животные обладают рядом особенностей. Для них характерен пониженный обмен веществ из-за снижения функции щитовидной железы. У всех безмикробных животных, кроме кошек, наблюдается повышенное содержание и активность пищеварительных ферментов.

Имеет место избирательный характер всасывания веществ из кишечника.

Такие аминокислоты, как метионин, триптофан и химические элементы (магний, кальций, железо и ряд других веществ) проникают через слизистую оболочку

кишечника лучше, а натрий, калий, витамин В- 12 и вода – хуже, чем у обычных животных. Кислород у них усваивается также хуже.

У безмикробных животных накапливаются вещества, вызывающие стойкое расширение сосудов, в результате чего снижен кровоток. В крови в 2 раза меньше уровень ядросодержащих клеток (лейкоцитов и лимфоцитов) из-за снижения гемопоэтической функции гранулоцитарного ростка костного мозга. В то же время количество эритроцитов у гнотобиотов увеличено, но эти клетки меньших размеров, чем у обычных животных. У безмикробных поросят встречаются преимущественно зрелые сегментоядерные лейкоциты.

В печени и лимфатических узлах гнотобиотов длительно (до 2-х месяцев) сохраняются очаги экстрамедуллярного кроветворения, свойственные эмбриональному периоду.

Размеры коры надпочечников у безмикробных крыс больше, а функциональная активность ее превышает в 6,5 раза таковую у обычных. При стрессе уровень гормонов, вырабатываемых клетками коры этого органа снижается.

Лимфоидная система у стерильных животных недоразвита, особенно лимфоидная ткань, связанная с кишечником и дыхательными путями. Эти животные обладают низким уровнем гуморальных факторов защиты – лизоцимом и комплементом, снижены уровни естественных антител и иммуноглобулинов, отсутствует реакция «трансплантат против хозяина», снижен клеточный иммунитет, в частности, гиперчувствительность замедленного типа. Вместе с тем при введении антигена реакция образования антител хотя и замедлена, но уровень антител выше, чем у обычных животных.

При заражении гнотобиотических животных у них может быть хроническое бактерионосительство или развивается генерализованная инфекция. В то же время они более устойчивы к действию эндотоксина по сравнению с обычными животными, а процесс очищения крови от этого вещества макрофагами протекает быстрее.

Фагоцитарная активность лейкоцитов и макрофагов по отношению к микроорганизмам снижена из-за отсутствия опсонинов, а фагоцитоз носит незавершенный характер. Воспалительная реакция у гнотобиотов слабее, чем у обычных с замедленной и менее выраженной экссудацией и миграцией клеток к очагу повреждения. Наряду с этим регенерация (заживление) ран наступает быстрее, и они заживают первичным натяжением, т.е. без нагноения.

Таким образом, становится очевидным, что многие морфологические и физиологические функции макроорганизма обусловлены наличием микроорганизмов, входящих в состав биопленок тела животного и человека.

Дальнейшие исследования, проводимые на гнотофорных животных, позволили установить роль отдельных представителей микробиоценоза и его совокупности в жизни макроорганизма.

9.4 Дисбактериозы, причины развития

Аутофлора кишечника и макроорганизм представляют собой две динамичные системы. В норме поверхностные антигены бактериальных клеток имеют определенную геометрию и фиксируются с помощью «структурных кинетических скрепок», роль которых выполняют межмолекулярные контакты (водородные связи, S-S – мостики и т.д.), поэтому они специальным образом упакованы в клеточной мембране и клеточной стенке и находятся в состоянии сжатой пружины.

Макроорганизм подобные структуры воспринимает как свое и не отторгает эти микроорганизмы. При попадании в кишечник некоторых веществ, в частности,

антибиотиков геометрия бактериальных антигенов изменяется и приобретает иной вид, становясь чужеродной для организма-хозяина. Вследствие чего на измененной поверхности бактериальных клеток будет сорбироваться секреторный иммуноглобулин А, т.е. произойдет опсонизация. Такие опсонизированные бактерии будут фагоцитироваться профессиональными фагоцитами и эпителиальными клетками кишечника хозяина. В данном случае состав микрофлоры перестает удовлетворять макроорганизм, и он отторгает часть микрофлоры.

Бывает и обратная ситуация, когда микрофлора действует на хозяина, который перестал выполнять свои функции по отношению к ней, не поставляя определенные метаболиты. В обоих случаях может развиваться дисбиоз (синоним дисбактериоз).

Особенно чувствительны к действию антибиотиков полезная микрофлора: лактобациллы и бифидобактерии, уровень которых резко снижается. При введении окситетрациклина, эритромицина, хлортетрациклина, хлорамфеникола кишечная микрофлора замещается на антибиотикоустойчивые штаммы золотистого стафилококка. Хлорамфеникол приводит к развитию в кишечнике антибиотикоустойчивых штаммов кишечной палочки. Эритромицин способствует повышению содержания стрептококков. Тетрациклины приводят к размножению стафилококков, бактероидов, клебсиелл, энтеробактерий, кандид.

Условно-патогенные бактерии синтезируют ферменты, которые разрушают нормальную биопленку, изменяют соотношение в ней различных бактериальных сообществ. После этого они сами прикрепляются к эпителию кишечника и формируют свой микробиоценоз, отрицательно действующий на макроорганизм.

Клинически дисбактериоз проявляется постоянной диареей и синдромом нарушенного кишечного всасывания, который приводит к нарушению роста и развития молодого организма, к дистрофическим нарушениям у взрослого.

Термин «дисбактериоз» введен в клиническую практику немецким врачом Ниссле в 1916 году. Дисбактериозом называют изменения количественного и (или) качественного состава бактериальной флоры, обусловленное динамическими нарушениями микроэкологии кишечника в результате расстройства адаптационных, защитных и компенсационных механизмов. Синонимами дисбактериоза являются: дисбиоз, избыточный бактериальный рост.

К возникновению дисбактериоза приводят загрязнение окружающей среды ксенобиотиками, радиацией, инфекционные заболевания желудочно-кишечного тракта, печени, поджелудочной железы, иммунодефициты, введение малых и средних доз антибиотиков широкого спектра действия, гормонов, антисептиков, противоязвенных препаратов, использование антигельминтных препаратов (аверсект-2, фасковерм, вермитан, панакур, сантел, клозальбен), хирургические вмешательства, врожденная патология желудочно-кишечного тракта, ферментопатии, нарушения нормального продвижения кишечного содержимого, недостаток соляной кислоты в желудке у всеядных животных, авитаминозы и гиповитаминозы, хронические очаги инфекции, нарушение переваривающей и всасывающей функций в желудочно-кишечном тракте.

Вопросы для самоконтроля

- 1.. В чем отличие аутофлоры от нормофлоры?
2. Что включает в себя понятие «микробная биопленка», как, где и когда она появляется у животного?
3. Какой «язык общения» у микроорганизмов, входящих в состав биопленок?
4. Как вы понимаете чувство кворума у микроорганизмов?

5. Почему чувство кворума позволяет условно-патогенным микроорганизмам переходить в категорию, приближающую их по патогенности к облигатным паразитам?
6. Какие животные называются «гнотобиотическими», как их можно получать и содержать?
7. Какие роли выполняет микрофлора в жизнедеятельности организма хозяина?
8. Микрофлора какого органа определяет нормальное функционирование макроорганизма?
9. За счет каких структур бактериальных клеток осуществляется толерантность организма хозяина к аутофлоре?
10. Как вы понимаете термин «дисбактериоз»?
11. Какие причины приводят к развитию дисбактериоза?

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

Электронная библиотека СГАУ – <http://library.sgau.ru/> **Л.С.Назарова** Клиническая микробиология с основами иммунологии: Учебное пособие для студентов старших курсов, обучающихся по специальности 111201 «Ветеринария», аспирантов кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии СГАУ им. Н.И. Вавилова и специалистов, Саратов 2011

Дополнительная

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. Госманов, Р.Г. Микробиология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.К. Галиуллин, А.Х. Волков, А.И. Ибрагимова. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2017. — 496 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/91076>.
2. Госманов, Р.Г. Микробиология и иммунология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.И. Ибрагимова, А.К. Галиуллин. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2013. — 240 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/12976>.
3. Колычев, Н.М. Ветеринарная микробиология и микология. [Электронный ресурс] / Н.М. Колычев, Р.Г. Госманов. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2014. — 624 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/39147>

Дополнительная

1. Ветеринарная микробиология и иммунология : учебник / Г. В. Дунаев, Н. М. Колычев, Н. А. Радчук ; ред. Н. А. Радчук. - М. : Агропромиздат, 1991. - 383 с. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 5-10-001805-4;

Лекция 10

Инфекция и иммунитет.

10.1. Понятие об инфекции, инфекционном процессе и инфекционных болезнях, патогенность и вирулентность, факторы патогенности.

Во все времена инфекционные болезни были более губительны для человечества, чем войны. В Средние века от таких инфекций как чума вымирали жители целых городов. После открытия патогенных микроорганизмов ученые не сразу пришли к мнению, что инфекционные болезни вызывают именно эти мельчайшие существа, а все проявления заболевания объясняли действием ядовитых веществ, которые образуются при гниении тканей, заселенных возбудителями болезни. В настоящее время уже никто не сомневается, что инфекционные процессы относятся к категории паразитизма. Все признаки инфекционной болезни обусловлены тремя факторами: жизнедеятельностью микроорганизмов и их токсинами; реакцией макроорганизма; окружающей средой.

Слово «инфекция» происходит от латинского «*inficio*» — вношу что-либо вредное, заражаю, и позднелатинского «*infectio*» — заражение. Следует различать понятия «инфекция», «инфекционный процесс» и «инфекционная болезнь». Термин «инфекция» означает активную жизнедеятельность патогенных микроорганизмов в пораженном ими макроорганизме. Инфекция может протекать бессимптомно или проявляться в виде инфекционной болезни. Термин «инфекционный процесс» означает непосредственное взаимодействие между микроорганизмом и макроорганизмом вследствие усиления межвидовой борьбы между ними. Термин «инфекционная болезнь» означает все функциональные и морфологические изменения, происходящие в зараженном организме. Инфекционная болезнь включает в себя инфекционный процесс. Она может проявляться на всех уровнях организации биологической системы: Молекулярно-генетическом, субклеточном, клеточном, тканевом, органном и организменном.

Основные источники инфекции

Существуют три основных возможных источника инфекции: 1) человек (больной, реконвалесцент, бактерионоситель), 2) животные и 3) объекты внешней среды, служащие естественной средой обитания некоторых патогенных бактерий или контаминированные выделениями от больных людей или животных. В соответствии с этим различают болезни: **антропонозные** (ими болеют только люди, например, брюшной тиф, дизентерия, холера и др.); **зоонозные** (греч. *zoon* — животное и *nosos* — болезнь, ими болеют только животные, например, чума рогатого скота, чума свиней и др.); **зооантропонозные** (ими болеют и животные, и заражающиеся от них люди). Существует около 100 зооантропонозных болезней (чума, туляремия, бруцеллез, лептоспироз и др.), некоторые из них — в виде естественных природных очагов. Кроме того, постоянным источником заражения человека является сама внешняя среда, главным образом, почва и вода. В почве постоянно находятся патогенные бактерии из рода *Clostridium* — возбудители раневых инфекций и ботулизма, может долго сохраняться возбудитель сибирской язвы. Кроме того, нормальными обитателями почвы и некоторых водоемов являются возбудители **сапронозных** заболеваний (греч. *sapros* — гнилой и *nosos* — болезнь, т. е. болезни, вызываемые возбудителями, средой обитания которых служат гниющие растения), например, иерсинии.

На заре развития микробиологии господствовала так называемая триада Генле—Коха, которая подчеркивала главную, ведущую роль в развитии инфекционного процесса микроорганизма — возбудителя заболевания. В соответствии с ней: 1)

микроорганизм всегда должен встречаться при данной болезни и не встречаться у здоровых людей и у больных другими болезнями; 2) микроорганизм должен быть выделен от больного в чистой культуре; 3) чистая культура микроорганизма должна вызвать то же самое заболевание. Однако многочисленные наблюдения со временем привели к пересмотру этой доктрины. Стало очевидным, что развитие болезни зависит не только от свойств возбудителя, но во многом и от состояния макроорганизма, которое, в свою очередь, зависит от условий его существования.

Группы и формы инфекций

Инфекции принято разделять на две основные группы:

а) *манифестная инфекция*, т. е. инфекционная болезнь, которая может протекать типично, атипично, хронически и т. п.;

б) *бессимптомная инфекция* (носительство, латентная, abortивная, дремлющая и т. п.).

В зависимости от свойств главных факторов инфекционного процесса (т. е. возбудителя и макроорганизма) различают следующие основные формы инфекции:

1. Abortивная. Возбудитель проникает в организм, но не размножается в нем или в связи с надежной естественной резистентностью, или с приобретенным специфическим иммунитетом, подавляющим возбудителя.

2. Латентная (инаппарантная). Возбудитель проникает в организм, размножается в нем, макроорганизм отвечает на него соответствующими иммунобиологическими реакциями, ведущими к формированию приобретенного иммунитета и удалению возбудителя из организма. Однако никаких внешних клинических проявлений этой инфекции нет, она протекает скрыто (латентно).

3. Дремлющая инфекция. Бессимптомное пребывание возбудителя в организме может сохраняться долгое время после латентной инфекции или после перенесенного заболевания. Под влиянием условий, понижающих сопротивляемость организма, сохраняющиеся в нем живые микроорганизмы активизируются и вызывают заболевание или его рецидив. Таким образом, патогенные микробы находятся некоторое время как бы в «дремлющем» состоянии.

4. Типичная для данного возбудителя форма инфекции. Возбудитель проникает в организм, активно в нем размножается, вызывая характерные (типичные) для данной болезни клинические проявления, которые также характеризуются определенной цикличностью.

5. Атипичная форма. Возбудитель проникает в организм, активно в нем размножается, организм отвечает соответствующими иммунобиологическими реакциями, которые приводят к формированию активного иммунитета, но клинические симптомы болезни носят невыраженный, стертый или атипичный характер.

6. Персистентная (хроническая). Возбудитель проникает в организм, размножается в нем, вызывает активную форму болезни, но под влиянием иммунных систем организма и химиопрепаратов подвергается L-трансформации. Возвращаясь в свою исходную форму, возбудитель восстанавливает патогенные свойства, размножается и вызывает обострение (рецидив) болезни. Типичным примером такой хронической инфекции является туберкулез. Сохраняющиеся в организме L-формы туберкулезной палочки являются главной причиной хронического течения этой болезни, а превращение L-форм туберкулезных палочек в исходные *Mycobacterium tuberculosis* — главная причина обострения и рецидивов ее.

7. Медленные инфекции. Возбудитель проникает в организм и может долгое время, в течение месяцев и лет сохраняться в нем внутриклеточно в латентном состоянии.

8. Бактерионосительство. Очень часто после либо латентной инфекции, либо перенесенного заболевания организм не в состоянии полностью освободиться от возбудителя. При этом животное или человек, будучи практически здоровым, становятся его носителем микроорганизмом в течение многих месяцев или даже лет, являясь источником заражения для других.

Существуют понятия **реинфекции, суперинфекции, микст-инфекции, вторичной инфекции.**

Реинфекция - повторное заражение и развитие инфекции, вызванной тем же возбудителем, обычно в форме клинически выраженной инфекционной болезни, так как после заболевания напряженный иммунитет не вырабатывается.

Суперинфекция — инфицирование организма болеющего тем же возбудителем до наступления выздоровления.

Микст-инфекция (коинфекция) — одновременное возникновение двух инфекционных процессов, вызванных различными микроорганизмами. Противоположное понятие – моноинфекция, причиной которой является один возбудитель.

Вторичная инфекция возникает как следствие ослабления иммунитета на фоне первичного инфекционного заболевания и может вызываться различными возбудителями (бактериями, вирусами, грибами). Вторичные инфекции, вызванные малопатогенными или непатогенными для здорового человека микроорганизмами, у страдающего иммунодефицитом животного или человека принято называть **оппортунистическими.**

Аутоинфекция означает развитие инфекционного процесса, вызванного собственной, как правило, условно-патогенной микрофлорой, населяющей кожу и слизистые оболочки, при попадании ее в другие биотопы (например, в рану) в результате самозаражения.

Различают также инфекцию **экзогенную** и **эндогенную** (в том числе аутоинфекцию), очаговую (локальную) и генерализованную.

Входные ворота, тропизм возбудителей, стадии болезни, исход

Заражение патогенными микроорганизмами может произойти только через поврежденную кожу и слизистые оболочки глаза, дыхательных, пищеварительных и мочеполовых путей. Заражение через неповрежденную кожу, если и возможно, то происходит исключительно редко, так как кожа для большинства микроорганизмов трудно проницаема. Однако даже самые ничтожные повреждения ее (укус насекомого, укол иглой, микротравмы) могут стать причиной заражения. Место проникновения возбудителя в организм человека или животного называется **входными воротами** инфекции. В случае, если ими является слизистая оболочка, возможны три типа инфекции: размножение возбудителя на поверхности эпителиальных клеток; проникновение его в клетки с последующим внутриклеточным размножением; проникновение возбудителя через клетки и распространение его по организму. После внедрения микроорганизм может оставаться в месте входных ворот или, попадая в кровь, разноситься в различные органы и ткани, осуществляя там свою жизнедеятельность. Некоторые микроорганизмы устремляются в кишечник, другие – в легкие, третьи – в почки. Подобные места локализации, где осуществляется основная

деятельность микроорганизмов, называют **тропизмом**. Заражение происходит одним из следующих способов:

1. Воздушно-капельным или воздушно-пылевым.
2. Фекально-оральным. Возбудитель выделяется с испражнениями или мочой, заражение происходит через рот при употреблении инфицированных пищевых продуктов, кормов или воды.
3. Трансмиссивным, т. е. через укусы кровососущих членистоногих.
4. Контактным — прямой контакт с больным, реконвалесцентом, бактерионосителем или через загрязненные предметы обихода, т. е. непрямым контактом.
5. Половым путем.
6. При использовании нестерильных медицинских приборов, особенно шприцев.
7. Вертикальным, т. е. от матери к плоду через плаценту, во время родов или сразу после них.

Развитие инфекционной болезни характеризуется определенной цикличностью, сменой периодов. Различают **инкубационный, продромальный периоды, периоды развития (расцвета) болезни и выздоровления (реконвалесценции)**.

Инкубационный период - период от момента заражения до появления первых признаков заболевания. В течение этого периода в организме происходит активное размножение и накопление возбудителя и его токсинов до определенного порогового количества, после которого организм начинает отвечать теми или иными клиническими проявлениями, т. е. наступает следующий, продромальный период. Продолжительность инкубационного периода варьирует в среднем от нескольких дней до нескольких недель, но он может быть равен и нескольким часам и длиться несколько месяцев, а при медленных инфекциях несколько лет.

Продромальный период, или период предвестников. Он характеризуется обычно неспецифическими, общими проявлениями - слабость, отсутствие аппетита, общее недомогание, повышение температуры. Его продолжительность варьирует в пределах 24—48 ч.

Период развития (расцвета) болезни. Он также часто характеризуется известной цикличностью. Различают стадию нарастания симптомов, расцвета болезни и период угасания симптомов.

Исход болезни. Клиническое выздоровление, переход в хроническую форму, смертельный исход.

Патогенность и вирулентность

Термин «патогенность» означает способность микроорганизмов вызывать заболевания. Он состоит из двух греческих слов: *pathos* — страдание, болезнь, и *genes* — рождающий. Патогенными, т. е. болезнетворными, являются далеко не все микроорганизмы. Одним из объяснений происхождения патогенных бактерий служит допущение того факта, что их появление связано с приспособлением к паразитическому существованию и приобретением в связи с этим таких биологических свойств, которые обеспечивают им способность противостоять защитным механизмам макроорганизма.

Другой механизм превращения непатогенных бактерий в патогенные связан с получением первыми дополнительными генов от бактериофагов или плазмид. Интегрируя в хромосому непатогенных микроорганизмов, такие фаги и плазмиды привносят в них свои гены, которые и превращают непатогенные бактерии в возбудители инфекционного заболевания. Многие варианты диареогенных кишечных

палочек возникли в результате приобретения ими плазмид, в составе которых имеются гены, превращающие непатогенную *E. coli* в патогенную, способную вызывать различные формы эрихиозов.

Патогенность, или способность вызывать заболевание, не является абсолютной. Ее обусловленность находит свое выражение в следующих фактах:

1. Патогенность микробов проявляется всегда по отношению к определенному виду (видам) животных. Есть бактерии, патогенные только для человека, есть патогенные только для животных, но есть патогенные и для человека, и для животных (возбудители чумы, бруцеллеза, туляремии и др.).

2. Непатогенный в одних условиях (естественных) для макроорганизма возбудитель может стать патогенным в других, измененных условиях. Например, в естественных условиях куры не болеют сибирской язвой, но если температуру их тела искусственно понизить, они ею заболевают.

3. Микроорганизмы, являющиеся непатогенными или условно-патогенными для физиологически здоровых организмов, могут стать патогенными при ослаблении их естественной резистентности, особенно под влиянием радиационного облучения.

Патогенность, т.е. способность вызывать заболевание — видовое свойство микроорганизмов, присущее виду в целом, но она может проявляться в разной степени у разных представителей данного вида. Поэтому для оценки степени патогенности используют термин вирулентность.

Патогенность и вирулентность (лат. *virulentus* ~ ядовитый) означают одно и то же — способность вызывать заболевание, но под вирулентностью понимают количественную оценку, т. е. меру, степень патогенности. Вирулентность может быть усилена (повышена) и ослаблена (понижена). Это достигается разными способами воздействия на соответствующего возбудителя. Но так как все признаки патогенности контролируются генами, то фактически получение авирулентных или высоковирулентных штаммов возбудителей сводится к селекции таких вариантов, всегда имеющих в каждой популяции, т. е. к созданию благоприятных для их отбора условий.

Вирулентность определяют в опытах на лабораторных животных. Для количественного выражения вирулентности микроорганизмов используют три метода: определение, DLM, DCL и LD₅₀. DLM— минимальная смертельная доза микроорганизмов или их токсинов, способная вызвать гибель животного за определенный срок, это величина относительная, зависит от вида животного. DLM для кролика, собаки и морской свинки будет различной. DCL) — безусловно смертельная доза, т. е. доза, вызывающая гибель любого животного; она также является относительной. Поэтому статистически наиболее достоверной летальной дозой принято считать дозу (количество микроорганизмов или их токсинов), вызывающую гибель 50 % зараженных животных, — LD₅₀.

Факторы патогенности

Патогенность как биологический признак бактерий реализуется через их три свойства: инфекциозность, инвазивность и токсигенность (или токсичность).

Под **инфекциозностью** понимают способность возбудителей проникать в организм и вызывать заболевание. Она обусловлена наличием у возбудителей факторов, способствующих их прикреплению к клеткам организма и колонизации.

Под **инвазивностью** понимают способность возбудителей преодолевать защитные механизмы организма, размножаться, проникать в его клетки и распространяться в нем. Это свойство также связано с наличием у патогенных микроорганизмов большой

группы факторов патогенности, которые наделяют их способностью к внедрению в клетки и размножению в них; факторов, подавляющих фагоцитоз и препятствующих ему; большой группы ферментов «агрессии и защиты».

Токсигенность бактерий обусловлена выработкой ими экзотоксинов.

Токсичность обусловлена наличием эндотоксинов. Экзотоксины и эндотоксины вызывают глубокие нарушения жизнедеятельности организма.

Патогенность, обусловлена наличием у патогенных бактерий конкретных факторов патогенности, каждый из которых ответствен за проявление определенных свойств. К ним относятся следующие факторы:

1. **Хемотаксис и подвижность** (у бактерий, имеющих жгутики). С помощью хемотаксиса бактерии ориентируются в отношении своих клеток-мишеней, а наличие жгутиков ускоряет их приближение к клеткам.

2. **Ферменты, разрушающие субстраты слизи**, которая покрывает эпителиальные клетки слизистых оболочек. Протеазы, нейраминидазы, лецитиназы и другие ферменты, разрушая слизь, способствуют высвобождению рецепторов, с которыми взаимодействуют микроорганизмы.

3. **Факторы адгезии и колонизации**, с помощью которых бактерии распознают рецепторы на мембранах клеток, прикрепляются к ним и колонизируют клетки. У бактерий функцию факторов адгезии выполняют различные структуры клеточной стенки: фимбрии, белки наружной мембраны, ЛПС и другие компоненты. **Адгезия** является пусковым механизмом реализации патогенности. Бактерии могут размножаться либо в клетках, либо на поверхности клеток слизистой (на их мембранах) либо проходить через них и далее распространяться по организму.

4. **Факторы инвазии**, т. е. факторы, с помощью которых бактерии проникают в клетку. Обычно они сопряжены с факторами, подавляющими клеточную активность и способствующими внутриклеточному размножению бактерий. Факторы инвазии у грамотрицательных бактерий обычно представлены белками наружной мембраны.

5. **Факторы, препятствующие фагоцитозу**, т. е. защищающие от фагоцитоза. Они также связаны с компонентами клеточной стенки и либо маскируют бактерии от фагоцитов, либо подавляют их активность. Такие факторы есть у многих бактерий. Они представлены капсулой из гиалуроновой кислоты, которая не распознается фагоцитами как чужеродная, так как химически не отличается от таковой организма, либо капсулами другой химической природы (у *B. anthracis*, *Y. pestis*.); различными белками, тормозящими фагоцитоз, — белок А (у стафилококков), М-белок (у стрептококков), антиген F_{9a} у возбудителя чумы; пленка из фибрина, образующаяся у стафилококков, имеющих плазмокоагулазу; к их числу относятся также пептидогликан, тейхоевые кислоты и другие компоненты клеточной стенки.

6. **Факторы, подавляющие фагоцитоз**, например V-W-антигены у *Y. pestis*. Наличие таких факторов обуславливает незавершенный характер фагоцитоза. Чаще всего он связан с образованием бактериями веществ, которые подавляют «окислительный взрыв» фагоцитов. Незавершенный фагоцитоз — одна из важных причин хронизации течения болезни (хронioseпсис).

7. **Ферменты «защиты и агрессии» бактерий**. С помощью таких ферментов, как фибринолизин, лецитиназа, гиалуронидаза, протеазы бактерии реализуют (наряду с факторами, подавляющими фагоцитоз и защищающими от него) свои агрессивные свойства. Эти ферменты способствуют их распространению в тканях организма. Одним из главных ферментов защиты (например, у стафилококков) является плазмокоагулаза. Превращая фибриноген в фибрин, этот фермент образует своеобразную белковую

пленку вокруг клеток, которая и защищает их от фагоцитоза. Патогенность может быть связана и с другими ферментами бактерий, например с аминопептидазами, подавляющими хемотаксис фагоцитов, а также с продуктами жизнедеятельности бактерий, обладающими токсическими свойствами.

8. Токсины микробов. Различают эндотоксины и экзотоксины.

Эндотоксины имеются только у грамотрицательных бактерий. Они представлены липополисахаридами и связанными с ними белками. Особенность эндотоксинов в том, что они термостабильны и высвобождаются из бактериальных клеток после их разрушения. Эндотоксины, в отличие от экзотоксинов, не обладают специфичностью действия. Их токсичность и пирогенность обусловлены липидом А, входящим в состав ЛПС и имеющим сходную структуру у разных грамотрицательных бактерий.

Экзотоксины. Их продуцируют как грамположительные, так и грамотрицательные бактерии. У грамположительных бактерий экзотоксины активно секретируются через цитоплазматическую мембрану и клеточную стенку в окружающую среду с использованием специальных секретирующих систем. У грамотрицательных бактерий (токсигенные кишечные палочки, сальмонеллы) некоторые экзотоксины (энтеротоксины) синтезируются только при определенных условиях непосредственно в инфицированном организме и нередко сохраняются в цитоплазме, освобождаясь из клетки только после ее разрушения.

Все известные бактериальные экзотоксины — белки, среди них есть термолабильные и термостабильные.

По молекулярной организации различают две основные группы экзотоксинов:

1. Экзотоксины, состоящие из двух фрагментов — А и В. Каждый фрагмент сам по себе не активен. Свойствами токсина они обладают, будучи связанными друг с другом. При этом фрагмент В выполняет две функции — акцепторную (распознает рецептор на мембране и связывается с ним) и формирования внутримембранного канала. Фрагмент А проникает через него в клетку и проявляет в ней токсическую активность, воздействуя на различные процессы метаболизма клетки. Такую структуру имеют, например, энтеротоксины патогенных грамотрицательных бактерий.

2. «Разрезанные» токсины. Эти экзотоксины синтезируются в бактериальных клетках в виде единой неактивной полипептидной цепи. В активную форму протоксин превращается в результате разрезания его протеазой. Образующийся при этом активный токсин состоит из двух связанных между собой дисульфидными связями пептидных цепей. Активация токсина (разрезание полипептидной цепи) может осуществляться либо собственной бактериальной протеазой, либо протеазами кишечного тракта макроорганизма. Такой тип экзотоксинов синтезируют *Clostridium tetani* и *C. botulinum*, причем в их токсинах содержатся дополнительные белки с иными, нетоксическими свойствами.

По характеру токсического действия экзотоксины также отличаются друг от друга. Например, экзотоксины с мембраноповреждающим механизмом действия разрушают эритроциты, лейкоциты, тромбоциты, базофилы, мастоциты и другие клетки, а также клетки культур тканей, протопласты и сферопласты. Механизм действия других экзотоксинов связан с нарушением жизненно важных процессов в клетке: подавлением биосинтеза белка и переноса электронов по цепи.

10.2. Иммуитет и его виды

Иммунитет – это невосприимчивость организма к любым генетически чужеродным для него агентам, в том числе микроорганизмам и их токсинам.

Наследственный (видовой иммунитет) — невосприимчивость одного вида животных или человека к микроорганизмам, вызывающим заболевания у других видов. Он генетически детерминирован у человека как биологического вида, т. е. человек не болеет зоонозными заболеваниями, а жвачные никогда не болеют сапом. Наследственный иммунитет может быть **абсолютным** (лошадь никогда не болеет чумой К.Р.С.) и **относительным**, т.е. он может быть прерван изменением условий внешней среды или увеличением дозы возбудителя (так, голубь, невосприимчивый в естественных условиях к сибирской язве, может быть заражен, если его предварительно отравить алкоголем).

Приобретенным иммунитетом называют такую невосприимчивость организма человека к инфекционным агентам, которая формируется в процессе его индивидуального развития и характеризуется строгой специфичностью. Он всегда индивидуальный. Он может быть естественным и искусственным.

Естественно приобретенный иммунитет может быть:

1) **Активным.** Формируется после перенесенной инфекции; постинфекционный иммунитет может сохраняться в течение длительного времени, иногда в течение всей жизни; При этом, когда возбудитель исчезает из организма и при этом сохраняет невосприимчивость к повторному заражению, говорят о стерильном иммунитете, а когда иммунитет бывает только при нахождении инфекционного агента в организме — говорят о нестерильном иммунитете.

2) **Пассивным.** Передаются иммуноглобулины от матери плоду или через молоко.

Искусственный приобретенный иммунитет можно создавать активно и пассивно.

Активный формируется введением антигенных препаратов, вакцин, анатоксинов. Этот вид иммунитета формируется через 10-14 дней после введения и длится от 6 месяцев.

Вакцины (лат. vaccinum — коровий, лат. vacca — корова)- препараты, используемые для искусственного создания приобретенного активного специфического иммунитета против определенных возбудителей или их токсинов.

По составу входящих в них антигенов различают моновакцины, содержащие антиген одного серовара; поливакцины, содержащие антигены нескольких сероваров, и комплексные, или комбинированные, или ассоциированные, вакцины, которые содержат антигены или нескольких видов микроорганизмов, или одного и того же, но в различных вариантах (корпускулярные и химические).

Традиционные вакцины

Живые вакцины готовят из штаммов бактерий и вирусов с ослабленной (или утраченной) вирулентностью.

Убитые вакцины, как правило, менее иммуногенны, чем живые, и также имеют недостатки — сенсбилизация организма, большая нагрузка на его иммунную систему, реактогенность и токсичность, обусловленные наличием липидов и других химических соединений.

Химические вакцины готовят из различных антигенных компонентов как бактерий (антигены клеточной стенки, Н-антигены, рибосомальные антигены), так и вирусов (субвирионные, субъединичные вакцины). Большое внимание уделяется разработке липосомных вакцин, которые представляют собой комплексы, состоящие из антигенов и липофильных носителей. Иммунолипосомы более энергично стимулируют выработку антител, кроме того, они вызывают пролиферацию Т-лимфоцитов и секрецию ими ИЛ-2.

Вакцин новых поколений

К ним относятся: искусственные (полностью синтетические) химические вакцины; вакцины, получаемые методами генной инженерии; и кассетные (экспозиционные) вакцины.

Искусственные вакцины создают из такого биоорганического комплекса, который обеспечивает сильный иммунный ответ организма на данный антиген, даже вопреки его генетически predetermined генами слабости иммунного ответа.

Генно-инженерные вакцины. Принцип создания генно-инженерных вакцин заключается в том, что ген (гены), ответственный за синтез наиболее иммуногенных детерминантов, встраивается в какую-либо самореплицирующуюся генетическую структуру, например в состав плазмиды или безопасного вируса (вируса осповакцины).

Кассетные, или экспозиционные, вакцины. Носитель антигенности в такой вакцине представляет собой белковую структуру, на поверхности которой располагаются (экспонируются) введенные в нее генно-инженерным или химическим путем соответствующие детерминанты либо одной специфичности, либо разных. Такая вакцина, являясь носителем специально отобранных и представляемых ею антигенных детерминантов, должна быть «идеальным» иммуногеном, так как она обладает высокой антигенностью и несет только необходимые для формирования специфического иммунитета детерминанты.

Пассивный иммунитет основан на введении в организм препаратов, содержащих специфические антитела (иммунные сыворотки, гамма-глобулины), с целью создания искусственного пассивного иммунитета. Этот вид иммунитета формируется через несколько часов после введения и длится 7-20 дней.

Кроме того, иммунитет может быть специфический и неспецифический.

| Факторы неспецифического иммунитета | | |
|---|---|---|
| Анатомо-физиологические факторы | Гуморальные факторы | Клеточные факторы |
| Барьерные функции кожи и слизистых оболочек, лимфоузлы, выделительная функция почек, кишечника, потовых желез, нормальная микрофлора тела животного, кислая среда однокамерного желудка, воспаление | Комплемент, пропердин, нормальные антитела, лизоцим, лактоферрин, интерферон, секреторный иммуноглобулин А, лизины, бактерицидная активность сыворотки крови (БАС). | фагоцитарная активность микро- и макрофагов |

Специфический иммунитет связан с иммунной системой организма

Иммунная система представляет собой совокупность всех лимфоидных органов и тканей организма, производящих специальные клетки (лимфоциты), способные взаимодействовать с чужеродными антигенами и синтезировать специальные белки. Лимфоидные органы подразделяют на центральные — тимус, костный мозг, сумка Фабрициуса (у птиц) и ее аналог у животных — пейеровы бляшки; периферические — селезенка, лимфатические узлы, солитарные фолликулы, кровь и др.

Главный компонент иммунной системы — лимфоциты. Взаимодействие различных классов лимфоцитов регулируют основные лимфоидные органы.

1. Формы биологических взаимоотношений между макро- и микроорганизмами. Паразитизм.

2. Определение понятия: «инфекция», «инфекционный процесс», «инфекционная болезнь». Основные признаки инфекционной болезни.
3. Основные периоды, характеризующие инфекционную болезнь.
4. Условия возникновения инфекционного процесса. Пути внедрения и распространения патогенных микробов в организме.
5. Периоды инфекционного процесса.
6. Виды инфекции: экзогенные, эндогенные, смешанные, суперинфекция, реинфекция. Бактерионосительство. Классификация по механизму передачи инфекции.
7. Триада Генле-Коха. Стадии развития и клиническое проявление инфекционной болезни: типичное и атипичное (абортивное, стертное, злокачественное), молниеносное, острое, подострое и хроническое с периодами ремиссии и рецидивов.
8. Роль макроорганизма и условий внешней среды в возникновении и развитии инфекционного процесса: питание, витамины, температура, утомление, возраст.
9. Понятие о патогенности и вирулентности микробов. Единицы измерения вирулентности. Основные факторы вирулентности: ферменты, поверхностные структуры, факторы защиты от фагоцитоза, токсины.
10. Методы усиления и ослабления вирулентности микроорганизмов. Примеры использования в ветеринарии микроорганизмов с ослабленной вирулентностью.
11. Токсины микробов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. Госманов, Р.Г. Микробиология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.К. Галиуллин, А.Х. Волков, А.И. Ибрагимова. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2017. — 496 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/91076>.
2. Госманов, Р.Г. Микробиология и иммунология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.И. Ибрагимова, А.К. Галиуллин. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2013. — 240 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/12976>.
3. Колычев, Н.М. Ветеринарная микробиология и микология. [Электронный ресурс] / Н.М. Колычев, Р.Г. Госманов. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2014. — 624 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/39147>

Дополнительная

1. Ветеринарная микробиология и иммунология : учебник / Г. В. Дунаев, Н. М. Колычев, Н. А. Радчук ; ред. Н. А. Радчук. - М. : Агропромиздат, 1991. - 383 с. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 5-10-001805-4;
2. Азаев, М.Ш. Теоретическая и практическая иммунология. [Электронный ресурс] / М.Ш. Азаев, О.П. Колесникова, В.Н. Кисленко, А.А. Дадаева. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2015. — 320 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/600332>.

Лекция 11

ПАТОГЕННЫЕ ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ КОККИ. МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ, КУЛЬТУРАЛЬНЫЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ СТАФИЛОКОККОВ И СТРЕПТОКОККОВ. МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ

Грамположительные кокки стоят на первом месте среди бактерий, которые вызывают у животных и людей гнойно-воспалительные заболевания. Возбудители могут быть патогенными и условно-патогенными. Грамположительные кокки относятся к семействам *Micrococcaceae* (*Staphylococcus*) и *Streptococcaceae* (роды *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Aerococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactococcus*).

11.1. Морфологические, культуральные и биохимические признаки возбудителей стафилококков

Стафилококк - уникальный микроорганизм. Он может вызывать более 100 различных заболеваний, относящихся к одиннадцати классам по Международной классификации 1968 г. Стафилококки могут поражать любую ткань, любой орган. Это свойство стафилококков обусловлено наличием у них большого комплекса факторов патогенности.

Род *Staphylococcus* включает в себя более 20 видов, которые подразделяются на две группы — коагулазоположительные и коагулазоотрицательные стафилококки. Стафилококк был обнаружен в 1878 г. Р. Кохом и в 1880 г. Л. Пастером в гнойном материале. Л. Пастер, заразив кролика, окончательно доказал роль стафилококка как возбудителя гнойного воспаления. Название «стафилококк» дал в 1881 г. А. Огстон (из-за характерного расположения клеток), а подробно описал его свойства в 1884 г. Ф. Розенбах. Для животных наиболее значимыми являются *Staphylococcus aureus*, *S. intermedius*, *S. epidermidis*, *S. felis*. *Staphylococcus aureus* вызывает у разных видов животных раневую инфекцию, маститы, воспаление суставов, особенно часто у кур, понос, вагинальную инфекцию у собак и лошадей. *Staphylococcus intermedius* поражает кожу и уши у собак, вызывает маститы у крупного рогатого скота, обнаружен у птиц и лошадей. *S. epidermidis* вызывает абсцессы у разных видов животных, маститы у крупного рогатого скота. *S. felis* поражает исключительно кошек, вызывая у них ружный отит, цистит, нагноение и абсцессы ран.

Морфологические свойства. Стафилококки широко распространены в природе. Их главным резервуаром являются кожные покровы человека и животных и их слизистые оболочки, сообщающиеся с внешней средой. Стафилококки грамположительные, правильной формы шаровидные клетки диаметром 0,5—1,5 мкм, располагающиеся обычно в виде гроздьев. Они неподвижные, спор не образуют, могут иногда иметь капсулу. В мазке гроздей они могут располагаться поодиночке, парами, тетрадами. Стенка стафилококков состоит из комплекса пептидогликана, тейхоевых кислот и белка А. Под влиянием лизоцима они могут образовывать L-формы. Содержание Г + Ц в ДНК - 30-39 мол %.

Культуральные свойства. Стафилококки аэробы или факультативные анаэробы, лишь один вид (*Staphylococcus saccharolyticus*) — строгий анаэроб. Стафилококки не требовательны к питательным средам, хорошо растут на обычных средах, температурный оптимум для роста 35—37 °С, рН 6,2—8,4. Колонии круглые, 2—4 мм в диаметре, с ровными краями, выпуклые, непрозрачные, окрашены в цвет образуемого пигмента. Рост в жидкой культуре сопровождается равномерным помутнением, со

временем выпадает рыхлый осадок. При росте на обычных средах стафилококки не образуют капсулы, однако при посеве уколом в полужидкий агар с плазмой или сывороткой большинство штаммов *S. aureus* образует капсулу. Бескапсульные штаммы в полужидком агаре растут в виде компактных колоний, капсульные — образуют диффузные колонии. Обычно могут расти в присутствии 15 %-ного NaCl и при температуре 45 °С.

Биохимические свойства. Стафилококки каталазопозитивны, обладают высокой сахаролитической активностью. Ферментируют с образованием кислоты без газа многие углеводы: глицерин, глюкозу, мальтозу, лактозу, сахарозу, маннит; Промежуточным продуктом является ацетоин, который определяют с помощью реакции Фогеса-Проскауэра. У них достаточно выражены протеолитические свойства (способность разлагать белки). Они разжижают желатин, свертывают и пептонизируют молоко. Белки разлагаются до конечных продуктов: аммиака и сероводорода. Стафилококки, восстанавливают нитраты в нитриты, активно гидролизуют жиры.

Антигенная структура. У стафилококков обнаружено более 50 типов антигенов, к каждому из них в организме образуются антитела, многие из антигенов обладают аллергенными свойствами. По специфичности антигены подразделяют на родовые (общие для всего рода *Staphylococcus*); перекрестно реагирующие — антигены, общие с изоантигенами эритроцитов, кожи и почек (с ними связаны аутоиммунные заболевания); видовые и типоспецифические антигены. По типоспецифическим антигенам, выявляемым в реакции агглютинации, стафилококки разделяют более чем на 30 серовариантов. К числу видоспецифических относят белок А, который образует *S. aureus*. Антигены локализуются в основном в клеточной стенке. Помимо белка А антигенными свойствами обладают полисахариды, тейхоевые кислоты, капсульные антигены.

Факторы патогенности. Стафилококки образуют различные ферменты (плазмокоагулазу, фибринолизин, лецитиназу, лизоцим, щелочную фосфатазу, ДНКазу, гиалуронидазу, теллуриредуктазу; протеиназу, желатиназу и др.). Указанные ферменты играют важную роль в метаболизме стафилококков и во многом определяют их патогенность. Такие ферменты как фибринолизин и гиалуронидаза, обуславливают высокую инвазивность стафилококков. Плазмокоагулаза является главным фактором их патогенности: она защищает от фагоцитоза и переводит протромбин в тромбин, который вызывает свертывание фибриногена, в результате чего каждая клетка покрывается белковой пленкой защищающей от фагоцитов.

Стафилококки обладают молекулами адгезии. Прикрепление стафилококков к клеткам тканей обусловлено их гидрофобностью (чем она выше, тем сильнее проявляются адгезивные свойства), а также адгезивными свойствами полисахаридов, возможно также белка А. и способностью связывать фибронектин (рецептор некоторых клеток).

Факторами патогенности являются также капсула и белок А, который связывается с антителом (Fc-фрагментом иммуноглобулинов IgG (IgG_{Iv}, IgG₂, IgG₄), в меньшей степени с IgM и IgA, нарушая тем самым защитные функции антитела. Он обладает антигенными свойствами, является сильным аллергеном и индуцирует размножение Т- и В-лимфоцитов. В лабораторных условиях свойство белка А связываться с Fc-фрагментом нашло широкое применение в реакции коаггутинации: стафилококки, нагруженные специфическими антителами, у которых остаются свободными активные центры, при взаимодействии с антигеном дают быструю реакцию агглютинации. Белок

А видоспецифичен, его образует *S. aureus*. Он располагается поверхностно, ковалентно связан с пептидогликаном, его м. м. составляет около 42 кД. Белок А особенно активно этот белок синтезируется в логарифмической фазе роста при температуре 41 °С, он термолабилен, не разрушается трипсином. Капсула и белок А нарушают фагоцитоз.

Стафилококки выделяют различные токсины. **Мембраноповреждающий токсин** вызывает гемолиз эритроцитов, некроз при внутрикожном введении кроликам, разрушение лейкоцитов, смерть кролика при внутривенном введении. Молекула этого токсина сначала связываются с неизвестными пока рецепторами мембраны клетки-мишени или неспецифически абсорбируются липидами, содержащимися в мембране и служит трансмембранным каналом, через который происходит вход и выход небольших молекул и ионов, что ведет к набуханию и гибели клеток, имеющих ядро, и осмотическому лизису эритроцитов. **Энтеротоксины А, В, С1, С2, С3, D, E.** Они характеризуются антигенной специфичностью, термостабильностью, устойчивостью к действию формалина (не превращаются в анатоксины) и пищеварительных ферментов (трипсина и пепсина), устойчивы в диапазоне рН от 4,5 до 10,0. Энтеротоксины являются низкомолекулярными белками с молекулярной массой от 26 до 34 кД со свойствами суперантигенов. С синтезом энтеротоксинов связана способность стафилококков вызывать пищевые отравления типа интоксикации. Чаще всего они вызываются энтеротоксинами А и D. Все типы стафилококковых энтеротоксинов вызывают сходную картину отравления: тошнота, рвота, боли в поджелудочной области, диарея, иногда головная боль, повышение температуры, мышечный спазм. Эти особенности стафилококковых энтеротоксинов обусловлены их суперантигенными свойствами: они индуцируют избыточный синтез интерлейкина-2, который и вызывает интоксикацию. Энтеротоксины возбуждают гладкую мускулатуру кишечника и повышают моторику желудочно-кишечного тракта. Отравление чаще всего связано с употреблением инфицированных стафилококком молочных продуктов (мороженого, пирожных, тортов, сыра, творога и т. п.) и консервов с маслом. Инфицирование молочных продуктов может быть связано с маститами у коров или с гнойно-воспалительными заболеваниями людей, имеющих отношение к производству продуктов питания.

Постинфекционный иммунитет существует, он обусловлен как гуморальными, так и клеточными факторами. Важную роль в нем играют антитоксины, антимикробные антитела, антитела против ферментов, а также Т-лимфоциты и фагоциты. Напряженность и длительность иммунитета против стафилококков изучены недостаточно, так как у них слишком разнообразна антигенная структура, а перекрестного иммунитета нет.

Лабораторная диагностика. Основным методом — бактериологический; разработаны и внедрены серологические реакции. В случае необходимости (при интоксикациях) прибегают к биологической пробе. Материалом для бактериологического исследования служат кровь, гной, молоко при маститах, выделения из половых органов при эндометритах, отделяемое ран, мокрота (при стафилококковой пневмонии). Материал засевают на кровяной агар для выявления гемолиза, на молочно-солевой (молочно-желточно-солевой) агар (угнетается рост посторонних бактерий за счет NaCl, лучше выявляются пигмент и лецитиназа). Выделенную культуру идентифицируют по видовым признакам, определяют у нее наличие основных признаков и факторов патогенности (золотистый пигмент, сбраживание маннита, гемолиз, плазмокоагулаза), обязательно проверяют чувствительность к антибиотикам, в случае необходимости

проводят фаготипирование. Из числа серологических реакций для диагностики гнойно-септических заболеваний применяют РПГА и ИФМ, в частности для определения антител к тейхоевой кислоте или к видоспецифическим антигенам.

Для определения энтеротоксигенности стафилококков используют три метода:

1) серологический — с помощью специфических антитоксических сывороток в реакции преципитации в геле обнаруживают энтеротоксин и устанавливают его тип;

2) биологический - внутривенное введение фильтрата бульонной культуры стафилококка кошкам в дозе 2—3 мл на 1 кг веса. Токсины вызывают у кошек рвоту и понос;

3) непрямой бактериологический метод - выделение из подозрительного продукта чистой культуры стафилококка и определение у него факторов патогенности (образование энтеротоксина коррелирует с наличием других факторов патогенности, в частности РНК-азы).

Наиболее простым и чувствительным является серологический метод обнаружения энтеротоксина.

Лабораторная диагностика. Основным методом — бактериологический; разработаны и внедрены серологические реакции. В случае необходимости (при интоксикациях) прибегают к биологической пробе. Материалом для бактериологического исследования служат кровь, гной, молоко при маститах, выделения из половых органов при эндометритах, отделяемое ран, мокрота (при стафилококковой пневмонии). Материал засевают на кровяной агар для выявления гемолиза, на молочно-солевой (молочно-желточно-солевой) агар (угнетается рост посторонних бактерий за счет NaCl, лучше выявляются пигмент и лецитиназа). Выделенную культуру идентифицируют по видовым признакам, определяют у нее наличие основных признаков и факторов патогенности (золотистый пигмент, сбраживание маннита, гемолиз, плазмокоагулаза), обязательно проверяют чувствительность к антибиотикам, в случае необходимости проводят фаготипирование. Из числа серологических реакций для диагностики гнойно-септических заболеваний применяют РПГА и ИФМ, в частности для определения антител к тейхоевой кислоте или к видоспецифическим антигенам.

Для определения энтеротоксигенности стафилококков используют три метода:

1) серологический — с помощью специфических антитоксических сывороток в реакции преципитации в геле обнаруживают энтеротоксин и устанавливают его тип;

2) биологический - внутривенное введение фильтрата бульонной культуры стафилококка кошкам в дозе 2—3 мл на 1 кг веса. Токсины вызывают у кошек рвоту и понос;

3) непрямой бактериологический метод - выделение из подозрительного продукта чистой культуры стафилококка и определение у него факторов патогенности (образование энтеротоксина коррелирует с наличием других факторов патогенности, в частности РНК-азы).

Наиболее простым и чувствительным является серологический метод обнаружения энтеротоксина.

11.2. Морфологические, культуральные и биохимические признаки возбудителей стрептококкозов

Стрептококки относятся к семейству *Streptococcaceae* (род *Streptococcus*). На основании полисахаридного антигена клеточной стенки (субстанция С) патогенные для животных и человека стрептококки делят на серогруппы, которые обозначают латинскими буквами от А до V. Подобное разделение было предложено Ребеккой

Лэндсфильд. Впервые стрептококки были обнаружены Т. Бильротом в 1874 г. при роже; затем Л. Пастером - в 1878 г. при послеродовом сепсисе; выделены в чистой культуре в 1883 г. Ф. Фелейзенем. Род стрептококков включает около 50 видов. Среди них выделяют 6 патогенных (*S. pyogenes* (группа А), *S. pneumonia* (группы не имеет), *S. agalactiae* (группа В), *S. equi* (группа С), *S. canis* (группа G), *S. porcinus* (группы E,P,U,V); 5 условно-патогенных и более 20 оппортунистических видов. Для удобства весь род подразделяют на 4 группы, используя следующие признаки: рост при температуре 10 °С; рост при 45 °С; рост на среде, содержащей 6,5 % NaCl; рост на среде, содержащей 40 % желчи; рост в молоке с 0,1 % метиленовым синим; рост после прогревания при температуре 60 °С в течение 30 мин.

S. pyogenes поражает в основном людей, которые могут заражать животных при уходе за ними и доении. У крупного рогатого скота вызывает маститы. *S. pneumonia* вызывает в основном пневмонию у всех видов животных и человека. *S. agalactia* вызывает хронические маститы у коров, овец, коз, верблюдов с разрастанием в вымени фиброзной ткани и снижением надоев, а также обнаруживается при кожных и вагинальных инфекциях у собак, гнойных инфекциях почек и матки у кошек. *S. equi* вызывает тяжелое заболевание у лошадей, называемое мыт (удушье), а также генитальную инфекцию и мастит. *S. canis* является возбудителем раневой и генитальной инфекции у собак, вызывает маститы и абсцессы у кошек, септицемию у котят. *S. porcinus* вызывает абсцессы и поражение лимфатических узлов у молодняка свиней.

Морфологические свойства. Стрептококки (греч. *streptos* — цепочка и *coccus* — зерно) — грамположительные цитохромнегативные, каталазонегативные клетки шаровидной или овоидной формы диаметром 0,6—1,0 мкм, растут в виде цепочек различной длины или в виде диплококков; неподвижны (кроме некоторых представителей серогруппы Д); содержание Г + Ц в ДНК — 32—44 мол %. Спор не образуют неподвижные. Патогенные стрептококки образуют капсулу. При неблагоприятных воздействиях в организме переходят в L-форму.

Культуральные свойства. Стрептококки — факультативные анаэробы, но имеются и строгие анаэробы. Температурный оптимум 37 °С оптимальный рН 7,2—7,6. На обычных питательных средах патогенные стрептококки или не растут, или растут очень скудно. Для их культивирования обычно используют сахарный бульон и кровяной агар, содержащий 5 % дефибринированной крови. Среда не должна содержать восстанавливающих сахаров, так как они угнетают гемолиз. На бульоне рост придонно-пристеночный в виде крошковатого осадка, бульон прозрачен. Стрептококки, образующие короткие цепочки, вызывают помутнение бульона. На плотных средах стрептококки серогруппы А образуют колонии трех типов:

а) мукоидные — крупные, блестящие, напоминают каплю воды, но имеют вязкую консистенцию. Такие колонии образуют свежeweделенные вирулентные штаммы, имеющие капсулу;

б) шероховатые — более крупные, чем мукоидные, плоские, с неровной поверхностью и фестончатыми краями. Такие колонии образуют вирулентные штаммы, имеющие М-антигены;

в) гладкие, менее крупные колонии с ровными краями; образуют неvirulentные культуры.

На кровяном агаре образуют гемодиз.

Биохимические свойства. Стрептококки ферментируют глюкозу, мальтозу, сахарозу и некоторые другие углеводы с образованием кислоты без газа, молоко не свертывают (кроме *S. lactis*), протеолитическими свойствами не обладают (кроме некоторых энтерококков), гидролизуют аминокислоту аргинин и эскулин.

Антигенная структура. Клеточная стенка содержит белки М,Т, R. Стрептококки также имеют перекрестно реагирующие антигены, общие для антигенов клеток базального слоя эпителия кожи и эпителиальных клеток корковой и медуллярной зон тимуса, что, возможно, является причиной аутоиммунных нарушений, вызываемых этими кокками. В клеточной стенке стрептококков обнаружен антиген (рецептор П), с которым связана их способность, как и стафилококков, имеющих белок А, взаимодействовать с Fc-фрагментом молекулы иммуноглобулинов.

Факторы патогенности.

1. Белок М — главный фактор патогенности. М-белок определяет адгезивные свойства, угнетает фагоцитоз, определяет антигенную типоспецифичность и обладает свойствами суперантигена.

2. Капсула. Она состоит из гиалуроновой кислоты, аналогичной той, которая входит в состав ткани, поэтому фагоциты не распознают стрептококки, имеющие капсулу, как чужеродные антигены.

3. Гемолизин (стрептолизин) О разрушает эритроциты, обладает цитотоксическим, в том числе лейкоцитотоксическим и кардиотоксическим, действием, его образует большинство стрептококков серогрупп А, С и G.

4. Гемолизин (стрептолизин) S обладает гемолитическим и цитотоксическим действием. В отличие от стрептолизина О, стрептолизин S является очень слабым антигеном, его также продуцируют стрептококки серогрупп А, С и G.

5. Стрептокиназа — фермент, который активируя фибринолизин крови, повышает инвазивные свойства стрептококка.

6. Фактор, угнетающий хемотаксис (аминопептидаза), подавляет подвижность нейтрофильных фагоцитов.

7. Гиалуронидаза — фактор инвазии.

8. Фактор помутнения — гидролиз липопротеидов сыворотки крови.

9. Протеазы вызывают разрушение различных белков.

10. ДНКазы (А, В, С, D) вызывают гидролиз ДНК.

Постинфекционный иммунитет. Основную роль в его формировании играют антитоксины и типоспецифические М-антитела.

Лабораторная диагностика. Для установления диагноза в лабораторию направляют трупы молодняка или паренхиматозные органы, при сепсисе — трубчатую кость, при поражении центральной нервной системы — головной мозг. От живых животных — кровь, лимфатические узлы, раневое отделяемое, молоко при маститах. Основным методом диагностики стрептококковых заболеваний является бактериологический с посевами патологического материала на кровяной агар.

Решающим этапом исследования выделенной чистой культуры является определение ее серогруппы. Для этой цели используют серологический метод — определение группового полисахарида с помощью реакции преципитации. Для этой цели используют соответствующие группоспецифические сыворотки. Если штамм является бета-гемолитическим, его полисахарид антиген экстрагируют НС1 и испытывают с антисыворотками серогрупп А, В, С, D. I и G. Если штамм не вызывает бета-гемолиза, его антиген экстрагируют и проверяют с антисыворотками только групп

В и D. Антисыворотки групп А, С, F и G часто дают перекрестные реакции с альфа-гемолитическими и негемолитическими стрептококками. Возможно постановка реакции связывания комплемента – РСК. Можно проводить биопробу на белых мышах. Для обнаружения стрептококковых полисахаридных антигенов может быть использован также ИФМ – иммуноферментный метод.

Вопросы для самоконтроля

1. Охарактеризуйте морфологические признаки грамположительных кокков-возбудителей гнойно-септических заболеваний животных.
2. Возможно ли определить, к каким родам относятся эти микроорганизмы, приготовив мазок из патологического материала?
3. Опишите культуральные признаки стафилококков, выращенных на жидких и плотных питательных средах.
4. Какие виды стафилококков встречаются чаще у животных?
5. Опишите биохимические признаки стафилококков.
6. Какие факторы патогенности стафилококков вы знаете?
7. Какие признаки положены в основу классификации стрептококков?
8. Какие виды стрептококков чаще встречаются у животных?
9. Опишите биохимические признаки стрептококков.
10. Какие факторы патогенности стрептококков вы знаете?
11. Охарактеризуйте постинфекционный иммунитет при стафилококкозах.
12. Охарактеризуйте постинфекционный иммунитет при стрептококкозах.
13. Как следует проводить лабораторную диагностику при стафилококкозах и стрептококкозах у животных?

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. Госманов, Р.Г. Микробиология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.К. Галиуллин, А.Х. Волков, А.И. Ибрагимова. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2017. — 496 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/91076>.
2. Госманов, Р.Г. Микробиология и иммунология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.И. Ибрагимова, А.К. Галиуллин. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2013. — 240 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/12976>.
3. Колычев, Н.М. Ветеринарная микробиология и микология. [Электронный ресурс] / Н.М. Колычев, Р.Г. Госманов. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2014. — 624 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/39147>

Дополнительная

1. Ветеринарная микробиология и иммунология : учебник / Г. В. Дунаев, Н. М. Колычев, Н. А. Радчук ; ред. Н. А. Радчук. - М. : Агропромиздат, 1991. - 383 с. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 5-10-001805-4;

Лекция 12. Возбудитель сибирской язвы

12.1 . Морфологические, культуральные и биохимические свойства возбудителя

Сибирская язва является острым инфекционным заболеванием человека и животных (домашних и диких) зооантропонозом. Она характеризуется тяжелой интоксикацией, сепсисом, возникновением отеков и карбункулов, поражением кишечника, реже легких. Источником инфекции животных являются старые скотомогильники, где были захоронены павшие от сибирской язвы животные, споросодержащий корм, инфицированная вода. Люди обычно заражаются при прирезке скота.

Русское название болезни дал С. С. Андриевский в связи с крупной эпидемией на Урале в конце XVIII в. В 1788 г. героическим опытом самозаражения он доказал идентичность сибирской язвы человека и животных и окончательно подтвердил ее нозологическую самостоятельность. Возбудитель — *Bacillus anthracis* — был неоднократно описан разными авторами (Поллендер А., 1849; Дален К., 1850; Браун Ф., 1854), однако его этиологическая роль была окончательно установлена Р. Кохом. (1876) и Л. Пастером (1881).

Морфологические свойства. *B. anthracis* (род *Bacillus*) относится к семейству *Bacillaceae*. Это крупная палочка длиной 5—8, иногда до 10 мкм, диаметром 1,0—1,5 мкм. Концы у живых палочек слегка закруглены, у убитых они как бы обрублены и слегка вогнуты. Палочки в мазках располагаются парами и очень часто — цепочками, особенно длинными на питательных средах, напоминая бамбуковую трость. Сибирезвевная палочка хорошо красится всеми анилиновыми красителями, грамположительна. Жгутиков не имеет, образует споры, но только вне организма человека или животного при наличии кислорода и определенной влажности. Температурный оптимум для спорообразования 30-35 °С (ниже 12 °С и выше 43 °С спорообразования не происходит). Споры располагаются центрально, их диаметр не превышает диаметра бактериальной клетки. Образование спор происходит в тех случаях, когда бактерии испытывают дефицит либо источников энергии, либо аминокислот или оснований. Микроб обладает дыхательными ферментами: цитохромоксидазой, каталазой, пероксидазой.

Культуральные свойства. Возбудитель сибирской язвы — аэроб или факультативный анаэроб. Температурный оптимум для роста 37—38 °С, рН среды 7,2—7,6. К питательным средам нетребователен. На плотных средах образует характерные крупные матовые шероховатые колонии R-формы. Структура колоний, благодаря цепочечному расположению палочек, которые образуют нити, отходящие от центра, имеет сходство с локонами или львиной гривой. На агаре, содержащем пенициллин (0,05—0,5 ЕД/мл). через 3 ч роста бациллы распадаются на отдельные шарики, располагающиеся в виле цепочки, образуя феномен «жемчужного ожерелья». В бульоне палочка, находящаяся в R-форме, растет на дне, образуя осадок в виде комочка ваты, бульон при этом остается прозрачным.

B. anthracis вирулентна в R-форме, при переходе в S-форму она утрачивает свою вирулентность. Такие палочки на плотной среде образуют круглые гладкие колонии с ровными краями, а в бульоне — равномерное помутнение. При этом палочки утрачивают способность располагаться в мазках цепочками и приобретают вид коккобактерий, располагающихся скоплениями. На сывороточном агаре и свернутой лошадиной сыворотке в присутствии 10—50 % углекислоты обнаруживаются гладкие полупрозрачные колонии (S-форма), а также слизистые (мукоидные), тянущиеся за

петлей колонии (М-форма), состоящие из капсульных палочек. Бескапсульные варианты на указанных средах образуют шероховатые R-формы колоний. В МПБ и других жидких средах сибиреязвенная бацилла (R-форма) через 16—24 ч на дне пробирки образует рыхлый белый осадок, надосадочная жидкость остается прозрачной. При встряхивании бульон не мутнеет, осадок разбивается на мелкие хлопья. Ряд штаммов растет в виде нежных отдельных хлопьев, взвешенных в столбике бульона, которые через 48 ч оседают на дно. Некоторые штаммы на 3—4-е сутки дают рыхлое пристеночное кольцо по мениску бульона, пленка на поверхности среды не образуется.

В сыворотке крови и жидких сывороточных средах (среда ГКИ) растет интенсивно с образованием обильного хлопьевидного осадка, капсульные варианты синтезируют мощные капсулы.

Весьма характерный рост отмечают в столбике желатина при посеве уколом. В этой среде на 2—5-е сутки появляется желтовато-белый стержень, от которого под прямым углом радиально отходят нежные боковые отростки — более длинные по мере приближения к поверхности среды и значительно укорачивающиеся в направлении книзу. Такая культура напоминает елочку, перевернутую верхушкой вниз. Постепенно верхний слой желатина начинает разжижаться, принимая сначала форму воронки, затем мешочка.

В молоке сибиреязвенные бациллы размножаются быстро, вырабатывая кислоту и через 2—4 дня свертывает его с последующей пептонизацией сгустка. На картофеле образует обильный, сухой, серо-белый налет, который иногда приобретает кремовый оттенок. Агаровые и бульонные культуры некоторых штаммов интенсивно окрашиваются в коричневый цвет вследствие окисления тирозина. Сибиреязвенная бацилла также хорошо размножается в 8—12-суточных куриных эмбрионах, вызывая их гибель в период 2—4 дней с момента заражения.

Биохимические свойства. У бациллы антракса выявлены ферменты: липаза, диастаза, протеаза, желатиназа, дегидраза, цитохромоксидаза, пероксидаза, каталаза. Некоторые штаммы образуют сероводород, особенно это свойство выражено в средах, богатых пептонами; эта бактерия выделяет аммиак. Ферментирует с образованием кислоты без газа глюкозу, мальтозу, медленно сахарозу, трегалозу, фруктозу и декстрин. На средах с глицерином и салицином возможно слабое кислотообразование. Утилизирует цитраты, образует ацетилметилкарбинол и вследствие этого дает положительную реакцию Фогеса — Проскауэра. Синтезирует лецитиназу и медленно коагулирует растворы желтка куриного яйца. Редуцирует метиленовый синий и восстанавливает нитраты в нитриты. Вырабатывает желатиназу, а также протеазу и достаточно быстро гидролизует желатин и свернутую сыворотку.

Антигенная структура. Микроорганизм обладает соматическим полисахаридным антигеном клеточной стенки. На его обнаружении основана диагностическая реакция термореципитации Асколи, капсульным антигеном, представляющим собой белок, токсином и ферментами: липазой, протеазой, желатиназой.

Факторы патогенности. Бацилла антракса образует сложный экзотоксин. Он состоит из трех компонентов (факторов), которые обозначаются: эдематогенный, что означает вызывающий отек фактор (EF), протективный (защитный) антиген (РА) и летальный фактор (LF), вызывающий гибель, или соответственно факторы I, II, III. Их синтезируют капсульные и бескапсульные варианты микроба. Эдематогенный фактор вызывает местную воспалительную реакцию — отек и разрушение тканей. В химическом отношении это липопротеин. Протективный антиген — носитель

защитных свойств, обладает выраженным иммуногенным действием. В чистом виде нетоксичен. Летальным фактор сам по себе нетоксичен, но в смеси со вторым фактором (РА) вызывает гибель крыс, белых мышей и морских свинок Протективный антиген и летальный фактор — гетерогенные в молекулярном отношении белки. Все три компонента токсина составляют синергическую смесь, оказывающую одновременно эдематогенное и летальное действия, каждый из них обладает выраженной антигенной функцией и серологически активен.

Инвазивные свойства микроба обусловлены капсульным полипептидом d-глутаминовой кислоты и экзоферментами.

Постинфекционный иммунитет связан с появлением антитоксинов и антимикробных (протективных) антител.

12.2 Диагностика. Профилактика

Лабораторная диагностика. Для лабораторного исследования на сибирскую язву чаще всего направляют ухо павшего животного. Можно взять кровь из надреза сосуда и нанести толстую каплю на предметное стекло. При вынужденном убое или подозрении на сибирскую язву во время вскрытия осторожно отбирают кусочки селезенки, печени, измененные лимфоузлы. От трупов свиней берут кусочки отечных тканей в области глотки и заглоточные лимфоузлы. Материал должен быть свежим: в разложившихся тканях бацилла антракса лизируется. Исследуют также пробы почвы, фуража, воды, шерсти и кожевенно-мехового сырья; объектами для серологического исследования по реакции преципитации служат пробы кожевенно-мехового сырья и разложившиеся ткани.

Исследование проводят по схеме: микроскопия мазков, выделение и изучение свойств чистой культуры, биопроба на лабораторных животных, при необходимости серологические исследования — реакция преципитации и иммунофлюоресцентный анализ.

Бактериоскопия. Из патологического материала для микроскопии готовят мазки, часть красят по Граму и обязательно на капсулы по Михину, Ребигеру, Ольту. Важным диагностическим признаком является обнаружение типичных по морфологии капсульных палочек.

Посев на питательные среды. Исходный материал засевают в МПБ и на МПА (рН 7,2—7,6), инкубируют посева при температуре 37 °С в течение 18—24 ч, при отсутствии роста их выдерживают в термостате еще 2 сут. Культуры просматривают, определяют их типичность, готовят препараты, микроскопируют. В мазках из культур обнаруживают бескапсульные палочки и споры.

Биологическая проба. Осуществляется на белых мышах, морских свинках, кроликах, одновременно с посевом материала на питательные среды. Белых мышей заражают подкожно в заднюю часть спины (по 0,1—0,2 мл), морских свинок и кроликов — под кожу в область живота (по 0,5—1,0 мл). Мыши погибают через 1—2 сут, морские свинки и кролики — через 2—4 сут. Павших животных вскрывают, делают мазки и посева из крови сердца, селезенки, печени и инфильтрата на месте инъекции исследуемого материала.

Идентификация бациллы антракса. В природе существует ряд видов аэробных споровых сибиреязвенно-подобных сапрофитов. К ним относят: *B.cereus*, *B.megaterium*, *B.mycoides* и *B.subtilis*. Так как они по морфологии и культуральным признакам во многом сходны с бациллой антракса, то часто при лабораторных исследованиях

возникает необходимость решить вопрос: выделена культура возбудителя сибирской язвы или подобного ему сапрофита?

Идентификацию и дифференциацию культуры проводят на основании главных и дополнительных признаков. К первым относятся патогенность, капсулообразование, тест «жемчужного ожерелья», лизабельность фагом, иммунофлюоресцентный тест. Дополнительными признаками, позволяющими отличать сибирезвенный микроб от почвенных бацилл, являются: неподвижность, отсутствие гемолиза, лецитиназная активность, образование фосфатазы. Бацилла антракса патогенна для лабораторных животных, сибирезвенноподобные сапрофиты не вызывают их гибель, за исключением *B. cereus*, которая может убить белых мышей при внутрибрюшинном заражении. Массивную с четкими контурами капсулу в организме образует только возбудитель сибирской язвы. Тест „жемчужного ожерелья" (предложили в 1953 г. Иснер и Клеемейер) основан на подавлении пенициллином синтеза клеточной стенки бациллы антракса и образовании сферопластов. Испытуемую трехчасовую бульону культуру высевают на МПА в чашки Петри: в первой чашке содержится 0,5, во второй — 0,05 ЕД пенициллина на 1 мл среды, третья — контрольная. Посевы инкубируют 3 ч при температуре 37 °С. На агаре с пенициллином бацилла антракса растет в виде цепочек, состоящих из шарообразных форм, напоминающих ожерелье из жемчуга. Сибирезвенноподобные сапрофиты на агаре с пенициллином этого феномена не дают.

Бактериофаги применяют для идентификации бациллы антракса, а также дифференциации ее от ложносибирезвенных бацилл. В качестве индикаторных у нас в стране выпускают два штамма фагов: «К ВИЭВ и «Гамма» МВА. Разработаны пробирочный метод, микрометод и реакция нарастания титра фага.

Иммунофлюоресцентный тест. Идентификация возбудителя сибирской язвы при помощи флюоресцирующих антител — ориентировочный метод и требует дополнительного изучения вирулентности, капсулообразования, фагочувствительности.

Подвижность устанавливается микроскопически или путем посева культуры уколом в столбик 0,3 %-ного агара. Неподвижные культуры растут только по ходу укола, подвижные — дают диффузный рост.

Лецитиназная активность у возбудителя сибирской язвы низкая: этот микроб или очень медленно свертывает, или вообще не свертывает желток куриного яйца. *B. cereus* интенсивно синтезирует лецитиназу и вызывает свертывание желтка через 6—10 ч. Не образует бацилла антракса и фосфатазу, в то время как сапрофитные споры ее продуцируют.

Профилактика. Для специфической активной профилактики сибирской язвы используют живую вакцину СТИ в споровой форме, живую вакцину из авирулентного штамма № 55. Для пассивной профилактики используют противосибирезвенную сыворотку и глобулин.

12.3 Исследование кожно-мехового сырья на наличие сибирезвенного антигена

Реакция Асколи. Для обнаружения сибирезвенных антигенов применяют реакцию преципитации по Асколи. Эту реакцию используют для исследования на сибирскую язву кожевенного и мехового сырья, загнившего патологического материала, в котором происходит лизис бациллы антракса, а также для исследования свежего патологического материала и серологической идентификации выделенных культур. Реакция преципитации по Асколи — достоверный и широко применяемый в практик,

тест серологической диагностики сибирской язвы. В качестве серологического теста, главным образом для изучения антигенного спектра бациллы антракса, применяют реакцию диффузионной преципитации (РДП).

Вопросы для самоконтроля

1. Назовите исследователей, изучавших сибирскую язву. Какие названия носит это заболевание за рубежом и почему?
2. Опишите признаки заболевания животных, вызванные возбудителем сибирской язвы, назовите возбудитель по латыни.
3. Опишите морфологические признаки сибиреязвенного микроорганизма.
4. Как следует культивировать возбудитель, какие питательные среды необходимо использовать?
5. Опишите биохимические свойства сибиреязвенного микроорганизма.
6. По каким признакам следует отличать сибиреязвенный микроорганизм от почвенных сапрофитических бацилл?
7. Какой патогенез у сибирской язвы?
8. Какими путями может произойти заражение человека?
9. Охарактеризуйте токсин сибиреязвенного микроорганизма.
10. Какие этапы лабораторного исследования необходимо проводить для установления микробиологического диагноза сибирской язвы? Какие органы следует направлять в ветеринарную лабораторию?
11. На каких животных ставится биопроба при подозрении на сибирскую язву?
12. Как осуществляется профилактика заболевания сибирской язвой?
13. Какой ускоренный способ постановки диагноза сибирской язвы вы знаете?
14. В чем суть реакции Асколи и для каких целей она используется?
15. Профилактика сибирской язвы у животных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. Госманов, Р.Г. Микробиология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.К. Галиуллин, А.Х. Волков, А.И. Ибрагимова. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2017. — 496 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/91076>.
2. Госманов, Р.Г. Микробиология и иммунология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.И. Ибрагимова, А.К. Галиуллин. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2013. — 240 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/12976>.
3. Колычев, Н.М. Ветеринарная микробиология и микология. [Электронный ресурс] / Н.М. Колычев, Р.Г. Госманов. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2014. — 624 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/39147>

Дополнительная

2. Ветеринарная микробиология и иммунология : учебник / Г. В. Дунаев, Н. М. Колычев, Н. А. Радчук ; ред. Н. А. Радчук. - М. : Агропромиздат, 1991. - 383 с. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 5-10-001805-4;

Лекция №13

Возбудители рожи свиней и листериоза. Морфологические, культуральные, биохимические свойства. Диагностика. Профилактика.

13.1. Возбудитель рожи свиней.

Возбудитель рожи свиней - *Erysipelothrix rhusiopathiae* обнаруживается в миндалинах и тонком кишечнике многих животных: свиней, крупного рогатого скота, овец, индюшек, кур, гусей, диких птиц, грызунов, а также у рыб. Микроб патогенен и для человека, заболевание у которого называется краснухой натуралистов, эризипелоидом Розенбаха, эритемой Беккера. Чаще всего болеют ветеринарные врачи, работники ферм, люди, занимающиеся разделкой мяса и рыбы.

Болезнь у животных передается при прямом контакте с больным животным, алиментарным путем, трансмиссивно при укусе блохами, вшами, клещами. Больные животные выделяют микроб с испражнениями, мочой, загрязняя растения, почву и воду. В природе в основном существует алиментарный путь заражения. Среди степных грызунов и птиц возникают летние эпизоотии.

Человек в основном заражается контактным путем через поврежденную кожу рук, при уходе за животными, разделке мяса, но микроб может проникать алиментарным путем и через органы дыхания. От человека к человеку болезнь не передается.

Опасность заключается в том, что микроб обладает высокой устойчивостью во внешней среде, может расти при температуре 16-41 °С. В почве сохраняется до 7-8 месяцев, в трупах -3-4 месяца, в воде при 4 °С 2-3 месяца, в солонине - до 6 месяцев. Копчение микроб не убивает. Но к дезинфекционным средствам микроб чувствителен: 1% раствор хлорной извести, 3% раствор лизола убивают микроб через 5-15 минут.

Из сельскохозяйственных животных к эризипелотриксу особенно чувствительны свиньи в возрасте 3-18 месяцев, у которых развивается бактериемия, сепсис и высокая летальность без лечения. Патогномичным признаком служит появление на коже больных животных ромбовидных участков красного или темно-красного цвета. У свиней более старшего возраста отмечаются хронические артриты, полисиновииты и эндокардиты.

Кроме этого возможна урогенитальная форма и молниеносное течение, когда животные погибают через несколько часов от начала болезни.

Носителями бывают здоровые свиньи, которые могут заболеть под воздействием стрессорных факторов.

Распространению рожи свиней способствует высокая температура в помещении, высокая влажность, скученное содержание животных.

У крупного рогатого скота развивается септицемия, полисерозиты, артриты. А у домашних птиц - септицемия.

Морфологические свойства. *Erysipelothrix rhusiopathiae* относится к семейству *Erysipelothrix*. Он представляет собой грамположительную неспорообразующую неподвижную короткую палочку с закругленными концами, размером 0,2-0,3x0,5-1,5 мкм, которая проявляет тенденцию к образованию длинных нитей. Капсулу не образует.

Культуральные свойства. Микроб является факультативным анаэробом, вследствие чего может расти в аэробных условиях, но лучше в атмосфере пониженного давления кислорода и содержания углекислого газа до 5-10 % . Оптимальный рост при температуре 37 °С, рН 7,2-7,6. Эризипелотрикс неприхотлив, поэтому хорошо растет на обычных простых питательных средах плотных и жидких: МПА, МПЖ (желатин),

МПБ, бульон Хоттингера, на специальных средах - 5% кровяном агаре, на элективной среде Сент-Иваньи с 0,1% содержанием кристаллвиолета и 1% азидом натрия.

В бульоне отмечается слабое помутнение, через 48-72 часа отмечается просветление среды и образование осадка.

На простых плотных питательных средах микроб образует 3 типа колоний: шероховатые R-колонии: крупные с неровной волокнистой поверхностью с корнеобразными отростками по краю (обычно встречающиеся при хронической форме), гладкие S- колонии - очень маленькие, круглые, умеренно выпуклые, прозрачные (встречаются при острой форме болезни) и промежуточные. Из R- колоний микробы в мазках располагаются в виде нитей, из S-колоний - типичные мелкие палочки, в SR- колониях присутствуют и те и другие морфологические формы.

На кровяном агаре вокруг колоний образуется зеленоватый поясok (α-гемолиз).

Биохимические свойства. На средах с углеводами - среды Гисса эризипелотрикс сбраживает до кислоты без газа глюкозу, лактозу, галактозу, левулезу. При выращивании в бульоне Хоттингера выделяется сероводород.

Антигенная структура. По антигенной структуре микроб подразделяют на 3 группы сероваров (всего таких сероваров 22): 1,2,3. Раньше их обозначали буквами А, В, N. Чаще встречается группа А, редко В и очень редко - N. Группа А выделяется при острых случаях, В и N - при хронических.

Факторы патогенности: соматический антиген, ферменты гиалуронидаз и нейдаминидаза, повреждающее действие на сосуды комплексов антиген-антитело, образующихся в организме и циркулирующих в нем, и цитокинов, вырабатываемых макрофагами под влиянием пептидогликанов клеточной стенки.

Постинфекционный иммунитет. Лабораторная диагностика. Для лабораторных исследований направляют целиком труп погибшего животного или внутренние органы с обязательным приложением сердца, трубчатой кости. Из внутренних органов делают мазки-отпечатки на обезжиренных предметных стеклах и окрашивают их по Граму. Одновременно производят посев на питательные среды (МПА, МПБ), которые инкубируют при 37 °С в течение 18-24 часов. Подозрительные колонии отсевают для получения чистых культур, которые затем идентифицируют по морфологическим, физиологическим, биохимическим свойствам, реакции агглютинации с гипериммунной сывороткой, для чего на предметное стекло наносят 1 кап. сыворотки в разведении 1:5 и петлей вносят суточную агаровую культуры и тщательно растирают. В положительных случаях имеет место реакция агглютинации в виде комочков. Экспресс методом считается постановка реакции иммунофлуоресценции.

Применяют биологический метод с заражением патологическим материалом мышей, голубей и кроликов. У первых двух видов животных развивается септицемия, у кроликов - кожное поражение.

Возможна постановка аллергической пробы через 3-10 суток от начала болезни с внутрикожным введением эндотоксина.

Дифференциальный диагноз выделенной культуры следует проводить с листериями минимально по 5 признакам: микробы семейства *Erysipelothrix* неподвижны, каталазу не продуцируют, гидролиз эскулина не дают, салицин не разлагают, но выделяют сероводород, *Listeria* обладают всеми признаками, за исключением выделения сероводорода.

13.2 Возбудитель листериоза.

Листериоз представляет собой инфекционную болезнь различных животных. Характеризующуюся поражением нервной системы, сепсисом, абортами и маститом. Заболевание вызывает микроорганизм *Listeria monocytogenes*. Листериоз относится к сапронозам. В почве микроб сохраняется в течение 6-11 месяцев и размножается. В силосе его можно обнаружить до года, в мясе также сохраняется до года. Кипячение убивает микроб в течение 10-15 минут, 2% хлорная известь и едкий натр - в течение 20 минут.

Восприимчивость животных и человека примерно одинакова, но животные находятся в более тесном контакте с почвой, навозом и силосом, необеззараженной водой и поэтому инфицируются массивной дозой возбудителя.

Листериоз описан у 40 видов животных, но особенно значим у домашних жвачных. На первый план клинической картины выходит поражение центральной нервной системы по типу менингоэнцефалита с параличом на 2-3 сутки. Болезнь регистрируется у крупного рогатого скота, овец, коз, лошадей, птиц (отряда куриных) и собак. У беременных животных листерии локализуются в плаценте, попадают в амниотическую жидкость, заглатываются плодом, вызывая его гибель и аборт. У лактирующих коров развивается субклинический мастит с заражением молока. У овец и коз могут развиваться также аборт и маститы. Кроме того возможно развитие системного листериоза, который наблюдается у лабораторных грызунов, домашней птицы, свиней, КРС, овец.

У животных инфекция может протекать доброкачественно и даже бессимптомно, за исключением того, что у них в крови также как и у больных с явными клиническими симптомами резко увеличивается уровень моноцитов. Микроб может трансформироваться в Л-форму и паразитировать длительно в клетках, обуславливая медленное латентное течение с бактерионосительством.

Животные выделяют микроб с мочой, фекалиями, молоком, носовой слизью. Заражение в основном происходит алиментарным путем, возможен трансмиссивный путь передачи - через укусы иксодовых и гамазовых клещей.

Человек заражается алиментарным путем через загрязненные фекалиями животных продукты и воду, аэрогенно и контактным путем. Ребенок может заразиться от матери внутриутробно (в этом случае очень высок процент рождения мертвых детей) или во время родов.

Морфологические свойства. *Listeria monocytogenes* относятся к роду *Listeria*. Микроб представляет собой грамположительную неспорообразующую кокковидную палочку, часто располагающуюся в мазке цепочками, под углом друг к другу в виде римской цифры V или параллельно. Длина микроба - 0,5-2 мкм, ширина - 0,4-0,5 мкм (при росте в гладком варианте), а при росте в шероховатом варианте - это удлинённые или нитевидные формы. Листерии подвижны при росте при 20-21 °С, являясь перитрихами, а при росте при 37 °С жгутиков может не быть или они единичны: чаще 1, редко 2-4. Капсулу не образуют.

Культуральные свойства. Микроб является факультативным (анаэробом, рост которого усиливается при пониженном давлении кислорода и наличии 5-10% углекислого газа. Рост возможен при температуре 4-38°С, особенно на средах с добавлением глюкозы, но оптимальный рост наблюдается при 37 °С и рН 7-7,2. Листерии хорошо растут на простых питательных средах, но растут слабо. Для

улучшения роста в среды добавляют кровь или ее сыворотку. Селективной средой является кровяной агар с добавлением триптофлавина и налидиксовой кислоты.

При росте в бульоне вызывает через 24 часа помутнение с образованием слизистого осадка. На простых плотных питательных средах листерии образуют гладкие и шероховатые колонии. Колонии в гладком варианте мелкие круглые полупрозрачные с ровным краем. После длительной инкубации некоторые штаммы образуют желтоватый или кремовый пигмент. На кровяном агаре образует зоны в-гемолиза (полное просветление агара вокруг колоний).

Биохимические свойства. Листерии обладают ферментативной активностью по отношению к глюкозе, мальтозе, рамнозе, левулезу, салицину, отдельные штаммы медленно расщепляют крахмал. Конечным продуктом ферментации углеводов является молочная кислота. Кроме того при ферментации углеводов образуется ацетон, о чем свидетельствует положительная проба Фогеса-Проскауэра (к суточной культуре микроба в среде Кларка добавляют равный объем КОН, через 3-4 часа или на следующий день обнаруживается оранжево-желтое окрашивание верхнего слоя). Индол и сероводород не образуют, желатин не разжижают, образуют каталазу, гидролизуют эскулин.

Антигенная структура. Микроб обладает О-антигеном и жгутиковым - Н - антигеном. Известно 16 сероваров, из которых наиболее часто встречаются 1 и 4в. Образуют 3 вида токсинов: а-гемолизин термостабилен, имеется у штаммов, выделенных от овец, в - гемолизин, моноцитозстимулирующий фактор (является белком, термостабилен, в среду не выделяется, а высвобождается после разрушения бактериальной клетки).

Факторы патогенности. Патогенные свойства листерии связаны с продукцией ими 3 видов токсина: а, в-гемолизина и моноцитозстимулирующего фактора.

Постинфекционный иммунитет. Иммунитет клеточный. Основными эффекторными клетками являются макрофаги, которые стимулируют Т-клетки.

Профилактика: сухая живая вакцина из штамма АУФ. Создает иммунитет до 6 месяцев у кроликов и норок и до года - у КРС.

Лабораторная диагностика. Для лабораторных исследований направляют трупы мелких животных, гоолову или головной мозг, паренхиматозные органы, абортированный плод и его оболочку. Прижизненно исследуют кровь, истечения из половых органов абортированных самок, молоко из пораженного вымени. Основные методы лабораторной диагностики - бактериологические и серологические.

Патологический материал при бактериологическом исследовании измельчают и смешивают 1:10 с жидкой питательной средой. Инкубируют при 4 °С, отбирая пробы через 1, 3, 6, 12 недель с посевом на кровяной агар с фениленэтинолом для ингибирования роста протей. Помимо этого патологический материал высевает на плотные питательные среды - МПА или мясо-печеночный агар, на мозговые среды. Посевы выдерживают 2-3 недели при 37°С, если не было роста через 18 часов. Материал из внешней среды сеют на среды с 0,05 % теллуридом К или полимиксином (1-5 мкг/мл среды), тормозящих рост грамотрицательных микробов или на триптозный агар с нитрофураном (1:10000) с дальнейшим просмотром чашек при косом освещении по Ланди. Диагностическим признаком является сине-зеленая окраска суточных колоний.

Выросшую культуру идентифицируют по комплексу морфологических, физиологических свойств, ставят реакции агглютинации со специфическими

диагностическими сыворотками, определяют подвижность, ставят реакцию Фогеса-Проскауэра и определяют интенсивность кислотообразования с метиловым красным.

При постановке биологического метода ставят биопробу на мышцах-сосунках, которым под кожу спины вводят суспензию исследуемого материала. Через 10-12 часов при положительной пробе появляются темно-красные пятна, распространяющиеся затем по всему телу. У погибших мышат следуют бактериологически головной мозг, печень, селезенку. Проводят биопробу на морских свинках путем постановки конъюнктивального теста: в глаз закапывают бульонную культуру. Через 2-3 суток при положительном результате развивается гнойный кератоконъюнктивит с моноклеарной инфильтрацией.

Серологические реакции:

1.РА с парными сыворотками (берут кровь на 7 и 17-21 день болезни) в качестве антигена используют 1-2 суточную агаровую культуру листерий, прогретых при 100 °С 1-2 часа. Диагностический титр у человека - 1:400 -1:800 при условии последующего нарастания в 3-4 раза и больше, 1 овец -1:200, у КРС и лошадей -1: 400, у кроликов-1:50.

2.РСК. Эта реакция более специфична, диагностический титр 1:5-1:10 при условии его нарастания.

3.РПГА

4.Для обнаружения листерий во внешней среде ставят реакцию иммунофлуоресценции.

Быстрым, чувствительным и специфичным методом обнаружения листерий без выделения культуры - реакция нарастания титра фага.

Вопросы для самоконтроля

1. Опишите признаки заболевания животных, вызванные возбудителем рожи свиней, назовите возбудитель по латыни.

2. Как следует культивировать возбудитель, какие питательные среды необходимо использовать?

3. Опишите биохимические свойства эризипелотрикса.

4. Какие этапы лабораторного исследования необходимо проводить для установления микробиологического диагноза рожи свиней? Какие органы следует направлять в ветеринарную лабораторию?

5. На каких животных ставится биопроба при подозрении на рожу свиней?

6. Как осуществляется профилактика заболевания рожей свиней?

7. Опишите клинические признаки листериоза у сельскохозяйственных животных.

8. Каким образом можно заподозрить наличие листерий в окрашенном мазке?

9. Опишите культуральные признаки листерий.

10. Как можно отличить возбудителя рожи свиней от возбудителя листериоза?

11. Какие этапы лабораторного исследования необходимо проводить для установления микробиологического диагноза листериоза? Какие органы следует направлять в ветеринарную лабораторию?

12. Какие серологические реакции следует проводить у животных при подозрении на листериоз?

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. Госманов, Р.Г. Микробиология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.К. Галиуллин, А.Х. Волков, А.И. Ибрагимова. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2017. — 496 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/91076>.
2. Госманов, Р.Г. Микробиология и иммунология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.И. Ибрагимова, А.К. Галиуллин. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2013. — 240 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/12976>.
3. Колычев, Н.М. Ветеринарная микробиология и микология. [Электронный ресурс] / Н.М. Колычев, Р.Г. Госманов. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2014. — 624 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/39147>

Дополнительная

1. Ветеринарная микробиология и иммунология : учебник / Г. В. Дунаев, Н. М. Колычев, Н. А. Радчук ; ред. Н. А. Радчук. - М. : Агропромиздат, 1991. - 383 с. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 5-10-001805-4;

Лекция 14

Возбудители анаэробных инфекций (патогенные клостридии). Морфологические, культуральные, биохимические свойства возбудителей. Диагностика. Профилактика

Род клостридий включает спорообразующие анаэробные микроорганизмы, обитающие в почве кишечном тракте животных (лошадей, коров, свиней, мелкого рогатого скота, кроликов, домашней птицы и т.д.) и человека. При экзогенном пути заражения споры попадают из почвы в организм, где превращаются в вегетативную форму. Чтобы развилась болезнь эндогенного происхождения, необходимо повреждение слизистой оболочки кишечника, которое может быть в частности при резкой смене пищевого рациона и наличия в корме травмирующих стенку кишечника грубых частиц. Патогенные клостридий — грамположительные палочки. Среди них встречаются неподвижные виды и виды, отличающиеся высокой подвижностью. Некоторые из них способны в организме человека или животного образовывать капсулу. Большинство патогенных клостридий способны продуцировать истинные экзотоксины очень большой силы. Например, токсин ботулинической палочки не имеет себе равных по силе среди природных биологических ядов.

Патогенных клостридий можно условно разделить на 3 группы: нейротоксигенные, кишечные и гистотоксигенные. Нейротоксигенные включают *Clostridium.tetani* и *C.botulinum*, первый вид вызывает столбняк, второй — ботулизм (кормовой токсикоз). К кишечным относят *C.sordellii*, *C.perfringens*, вызывающие энтерит, энтеротоксемию. Гистотоксические клостридии — это *C.septicum*, *C.chauvoei*, *C.histolyticum*, *C.novy*, *C.perfringens*.

14.1 Нейротоксигенные клостридии Возбудитель столбняка

Входными воротами для этих клостридий служат небольшие проникающие разрезы, кастрация животных, места инъекций при условии внесения в них спор возбудителя, что возможно при попадании почвы. При прорастании спор развивается остропротекающая неконтагиозная раневая инфекция, при которой нервная система поражается экзотоксином микроба. Болезнь проявляется тоническими и клоническими сокращениями мышц. Эндогенная инфекция часто возникает у лошадей, менее часто у других травоядных. Редко у свиней и плотоядных.

Морфологические свойства. Клостридий столбняка — крупные тонкие палочки с закругленными концами длиной 3—12 и шириной 0,3—0,8 мкм. В препаратах из пораженных тканей бактерии располагаются отдельно и группами по 2—3 клетки, из культур, особенно молодых, на жидких средах отмечаются длинные изогнутые нити. Столбнячная палочка подвижна (птритрих), может иметь до 20 и более жгутиков; в старых культурах преобладают клетки без жгутиков. Капсулу не синтезируют. Образует терминальные круглые споры, в 2—3 раза шире клетки, в результате этого бактерия приобретает вид барабанной палочки. Споры формируются в культурах обычно через 2—3 суток, они также образуются и в организме. Палочки со спорами неподвижны. На 4—6-е сутки культуры на жидких средах состоят исключительно из спор и почти не содержат вегетативных клеток: они лизируются. Вегетативные клетки хорошо окрашиваются спирто-водными растворами анилиновых красок. Грамположительны, но в старых культурах часть бактерий грамотрицательна.

Культуральные свойства. Микроб строгий анаэроб, высокочувствительный к повреждающему действию кислорода. На питательных средах растет медленно. Оптимальными являются рН 7,4—7,6 и температура 36—38 °С, границы роста лежат в пределах 14—43 °С. Для своего роста требует наличия в питательной среде аминокислот.

На жидкой среде Китта — Тароцци растет медленно, обычно через 24—36 ч появляется интенсивное равномерное помутнение с незначительным газообразованием в виде единичных пузырьков, к 7-м суткам выпадает рыхлый осадок, среда при этом становится прозрачной. Культуры, особенно к 3—5 сут роста, издают своеобразный запах жженого рога, из-за продукции масляной кислоты. На плотной питательной среде на 2-4 сутки появляются прозрачные или слегка сероватые колонии с неровной зернистой поверхностью. Могут быть шероховатые колонии с нитевидными отростками. Колонии окружены слабой зоной гемолиза (2—4 мм). Если чашки дополнительно выдержать при комнатной температуре, зона гемолиза увеличится. В высоком столбике атара через 1—2 сут вырастают плотные колонии, напоминающие чечевичное зерно, иногда диск (R-форма) или же пушинку с плотным центром (S-форма). В столбике желатина через 5—12 дней появляется рост в виде елочки и происходит медленное разжижение субстрата. Молоко свертывается медленно с образованием на 5—7-е сут мелких хлопьев.

Биохимические свойства выражены слабо. Микроб не сбраживает моносахариды и многоатомные спирты. Однако некоторые штаммы могут ферментировать глюкозу. Все штаммы обладают слабой протеолитической активностью, медленно свертывают молоко.

Антигенная структура. Подвижные штаммы клостридий столбняка в своем составе имеют соматический О- и жгутиковый Н-антигены, неподвижный — только О-антиген. Термолабильный Н-антиген определяет типовую специфичность микроба. Описано 10 сероваров возбудителя столбняка, различающихся по структуре Н-антигена, обозначаемых цифрами I, II, III, IV и т. д. В природе чаще других встречаются серовары I и II. Все они продуцируют иммунологически однородный экзотоксин, нейтрализуемый противостолбнячной сывороткой. Термостабильный О-антиген является групповым.

Факторы патогенности. Микроб выделяет при своем росте 2-х компонентный экзотоксин: тетаноспазмин и тетанолизин. Первый компонент избирательно действует на нервную систему и вызывает тонические сокращения поперечнополосатых мышц, второй — неспецифический гемолиз эритроцитов. Тетаноспазмин — это белок, прочно связанный с клеточной стенкой. Он вырабатывается в организме и культурах, появляясь на 2-е сут инкубирования и достигая максимума к 5—7-му дню. Тетанолизин представляет собой секретлируемый белок, при внутривенном введении белым мышам вызывает лизис эритроцитов. К столбнячному токсину высоко чувствительны белые мыши и морские свинки.

Кроме токсина клостридии столбняка вырабатывают ферменты патогенности: РНК-азу и фибринолизин. РНК-аза токсична для лейкоцитов и ингибирует фагоцитоз; фибринолизин способствует всасыванию тетаноспазмина.

Постинфекционный иммунитет и профилактика. Если животное выздоравливает, то иммунитет после перенесенного заболевания не развивается, но возможна вакцинация животных анатоксином, после введения которого у животных обнаруживается стойкий и напряженный иммунитет.

Лабораторная диагностика. В лабораторию для исследования направляют кусочки тканей из глубоких слоев раневых поражений, гной, инородные тела, тампоны, перевязочный материал, содержащий выделения из ран, в котором могут находиться клостридии столбняка. При генерализации процесса возбудителя обнаруживают во внутренних органах. В этом случае берут от трупа кусочки печени и селезенки по 20—30 г и 10 мл крови. При возникновении столбняка после родов или аборта направляют выделения из влагалища и матки, а при подозрении столбняка у новорожденных животных посылают труп целиком.

При исследовании выделяют возбудитель столбняка и его токсин.

Для обнаружения токсина в патологическом материале и культуре ставят биопробу. Для этого исследуемый материал растирают в стерильной ступке с кварцевым песком, добавляют двойной объем физиологического раствора. Смесь выдерживают 60 мин при комнатной температуре, после чего фильтруют через ватно-марлевый или бумажный фильтр и вводят фильтрат внутримышечно в бедро задней лапки двум мышам в дозе 0,5—1 мл.

Для постановки биопробы лабораторным животным (морским свинкам, белым мышам) вводят взвесь исследуемого материала (0,5—1 мл) в бедро задней лапки. Затем исследуют ткань погибших животных, взятую из места заражения, и внутренние органы (кровь из сердца, печень и селезенку). При наличии в исследуемом материале *S. tetani* у животных развивается клиническая картина «восходящего» столбняка.

Для получения более быстрого результата рекомендуют вводить материал в область корня хвоста в смеси с хлористым кальцием или стерильным порошком пемзы. Если исследуют культуру, то для накопления токсина ее предварительно выдерживают при температуре 37—38 °С в термостате 6—10 дней, фильтруют или центрифугируют и вводят в дозе 0,3—0,5 мл двум белым мышам. Одновременно проводят реакцию нейтрализации токсина. Для этого часть фильтрата смешивают с противостолбнячной сывороткой и вводят в аналогичных условиях другой группе мышей. Мыши контрольной группы не должны погибнуть.

Столбнячный токсин можно обнаружить с помощью РНГА.

Для идентификации клостридий столбняка в различных объектах в настоящее время предложен иммунофлюоресцентный метод с применением противостолбнячных антимикробных сывороток, меченных изотиоцианатом флюоресцеина.

Возбудитель ботулизма

Возбудитель ботулизма — *S. botulinum* вызывает остропротекающий кормовой токсикоз. Заболевание развивается вследствие воздействия ботулинического токсина на центральную нервную систему, что сопровождается парезами двигательных мышц.

Морфологические свойства. *S. botulinum* в окрашенных препаратах имеет вид палочек с закругленными концами длиной 4—9 и шириной 0,6—0,8 мкм. Бактерии располагаются изолированно или парами, иногда в виде коротких цепочек. Микроб подвижен, большинство клеток из старых культур без жгутиков. Образует споры, располагающиеся субтерминально, редко центрально. Палочки со спорами имеют вид теннисных ракеток. Капсулы не образуют.

Вегетативные клетки хорошо окрашиваются спирто-водными растворами анилиновых красок, грамположительные в молодых культурах и на препаратах из тканей, в старых культурах — грамотрицательные.

Культуральные свойства. Возбудители ботулизма — строгие анаэробы. На поверхности плотных питательных сред растут при условии, если остаточное давление

воздуха не превышает 3—6 мм ртутного столба. Для культивирования применяют специальные среды: глюкозо-кровяной агар Цейслера, печеночный агар с глюкозой, агар столбиком с глюкозой, среду Китта — Тароцци, бульон Хоттингера под вазелиновым маслом с кусочками мяса или печени и добавлением непосредственно перед посевом 0,5—1 % глюкозы.

Оптимальная температура для роста и токсинообразования бактерий сероваров А, В, С, D — 35 °С, для сероваров Е и F — 28—30 °С; споры возбудителей ботулизма сероваров Е и F могут прорасти, размножиться и образовывать токсин даже при 4 °С, развитие и токсинообразование сероваров А и В возможно при температуре 10—55 °С. Оптимум рН 7,4-7,7.

При росте на среде Китта — Тароцци ботулинический микроорганизм образует помутнение, затем появляется осадок и жидкость светлеет, культура издает запах прогорклого масла. На агаре Цейслера вырастают прозрачные колонии — росинки величиной в несколько миллиметров с ровными или изрезанными краями и блестящей поверхностью, окруженные зоной гемолиза. Окрашены колонии в слегка коричневатый или серовато-мутный цвет, их середина вогнутая или выпуклая. Крупные колонии более плоские. В пределах одного штамма встречаются колонии нескольких типов. Одни штаммы дают полный гемолиз, другие только обесцвечивают агар. В агаре столбиком колонии имеют форму чечевиц или комочков ваты с уплотненным центром.

Биохимические свойства. *C. botulinum* при посеве на среды с сахарами ферментирует с образованием газа и кислоты: глюкозу, левулезу, мальтозу, глицерин, декстрин, салицин, адонит, инозит и не разлагает галактозу, сахарозу, дульцит, маннит, арабинозу и рамнозу. Однако эти свойства непостоянны и не могут служить критерием идентификации микроба и дифференциации его сероваров.

Бактерии сероваров А и В обладают высокой протеолитической активностью: они полностью переваривают кусочки печени и мышц в жидких средах; протеолитические свойства у серовара F выражены слабее и минимальны у сероваров С, D и Е.

Антигенная структура. Возбудители ботулизма имеют жгутиковый H - и соматический O-антигены. O-антиген является групповым, общим для протеолитических штаммов *C. botulinum* сероваров А, В и *C. sporogenes*. H-антиген типоспецифичен.

В природе существует семь сероваров *C. botulinum* (А, В, С, D, Е, F и G), которые различаются по антигенной структуре экзотоксинов. Все семь сероваров экзотоксина обладают иммунологической специфичностью, выявляемой в реакции нейтрализации. Специфичность токсинов сероваров А, В и Е очень высока, С и D — несколько ниже. Токсины этих двух сероваров не нейтрализуются антитоксинами А, В и Е, но небольшие дозы токсинов С и D перекрестно нейтрализуются большими количествами антитоксинов D и С. Известен также факт перекрестной нейтрализации специфическими антисыворотками ботулинических токсинов сероваров Е и F.

Факторы патогенности. В анаэробных условиях в организме животных, субстратах растительного и животного происхождения, а также на специальных питательных средах *C. botulinum* синтезирует чрезвычайно активный экзотоксин, относящийся к группе нейротоксинов. Самый сильный токсин вырабатывает серовар А. Протеолитические ферменты желудочно-кишечного тракта (пепсин, трипсин) не разрушают токсины сероваров А, В, С, D, F, но усиливают активность токсина серовара Е. В кислой среде при рН 3,5—6,8 устойчивость токсинов больше, чем в щелочной, при

pH7,8 они значительно снижают свои токсические свойства, pH выше 8,5 их инактивирует.

Каждый из семи сероваров возбудителя ботулизма обладает токсином, имеющим только ему присущую антигенную структуру. В составе токсина различают не менее пяти факторов: нейротоксин, гемолизин, гемолизин-гемагглютинин, липаза и протеаза.

Токсическими факторами *C. botulinum* также являются ферменты патогенности и среди них протеиназы, лецитиназы и декарбоксилазы.

Постинфекционный иммунитет. Профилактика. После перенесенной болезни иммунитет у животного не развивается. Доказана возможность создания стойкого анитоксического иммунитета к ботулизму путем искусственной вакцинации специфическим анатоксином. Для специфической профилактики ботулизма используют анатоксины, преципитированные квасцами или сорбированные на гидрате окиси алюминия. Из животных вакцинируют только норок.

Лабораторная диагностика. Биологическое исследование осуществляют для обнаружения ботулинических токсинов. Материал растирают и разводят, как и в предыдущем случае, затем для экстрагирования выдерживают при комнатной температуре 1—2 ч, пропускают через ватно-марлевый фильтр, можно центрифугировать при 3000 об/мин 30 мин. Цитратную кровь и сыворотку не разводят, но исследуют сразу после взятия: токсин в них разрушается очень быстро.

Для обнаружения токсина берут четырех белых мышей, по 16—18 г каждая. Двум из них исследуемый материал (0,5—0,8 мл) вводят внутрибрюшинно или внутривенно (в хвостовую вену), две другие остаются контрольными. Им инокулируют предварительно прогретый в течение 30 минут при температуре 100 °С экстракт. При наличии ботулинического токсина две первые мыши гибнут через 1—4 дня, контрольные остаются живы.

Типизацию токсина проводят в реакции нейтрализации с гомологичными анитоксическими сыворотками.

14.2 Гистотоксические клостридии

Гистотоксические клостридии являются обычными патогенами домашних животных и человека, вызывая раневую инфекцию в виде лтека или газовой гангрены. В организм они могут поступать из почвы или из кишечного тракта.

Возбудитель эмфизематозного карбункула

Эмфизематозный карбункул (эмкар) в основном регистрируется у крупного рогатого скота. Поражаются преимущественно молодые (моложе 3-х лет) животные. Описаны редкие случаи заболевания буйволов, овец и коз. Возбудителем является *C. chauvoei*. Эмфизематозный карбункул — острая неконтагиозная инфекционная болезнь, характеризующаяся развитием крепитирующих отеков в массивных группах мышц конечностей, хромотой и быстрой гибелью животных. Иногда заюоление протекает только с поражением миокарда, языка или диафрагмы.

Морфологические свойства. *C. chauvoei* представляет собой прямые или слегка изогнутые с закругленными концами толстые палочки шириной 0,6—1,0 мкм и длиной 2—8 мкм. В препаратах из тканей располагаются одиночно, парами, очень редко по 3—4 штуки. Микроб обладает значительным полиморфизмом, особенно в мазках из животных тканей, где нередко приобретает форму веретена, лимона, груши, шара и т. д. Капсулы не имеет, подвижный (перитрих). В организме и внешней среде образует центрально и субтерминально расположенную спору. В культуре спорообразование

отмечается через 24 ч, через 48 ч становится значительным. Вегетативные клетки хорошо окрашиваются спирто-водными растворами анилиновых красок, часто воспринимают окраску неравномерно, более интенсивно на полюсах, в цитоплазме иногда обнаруживают зернистость. По Граму в молодых культурах и препаратах из тканей красятся положительно, в старых культурах — отрицательно.

Культуральные свойства. *C. chauvoei* — строгий анаэроб. Для культивирования применяют специальные среды, дополнительными ингредиентами которых являются кровь, сыворотка, кусочки печени, мозга, мышц. Наиболее часто используют среду Китта — Тароцци, бульон Мартена, мозговую среду, полужидкий агар, глюкозо-кровоной агар, глюкозный агар с 10—12 % бычьей сыворотки. Оптимальные значения рН 7,2—7,6, температуры 36—38 °С, рост возможен и при 14 °С. В среде Китта — Тароцци уже через 12—24 ч отмечается пышный рост с газообразованием и легким помутнением, на 2—3-й сут среда светлеет и на дно выпадает рыхлый беловатый осадок, аналогично растет и в бульоне Мартена. Молодые культуры запаха не издают, в старых обнаруживается запах прогорклого масла. В глубине сывороточного агара растет в форме чечевицеобразных или круглых колоний с нежными отростками. На пластинке глюкозо-кровоного агара Цейслера через 24—48 ч инкубирования вырастают круглые, в виде перламутровой пуговицы или в форме виноградного листа, плоские, с ровным краем и приподнятым центром колонии, окруженные зоной прозрачного гемолиза.

Биохимические свойства. *C. chauvoei* синтезирует протеазу, медленно разжижающую желатин; коагулирует молоко на 3—6-е сут роста, сгусток его имеет вид мягкой губчатой массы, пептонизация сгустка не наступает. Большинство штаммов продуцирует незначительное количество сероводорода. Расщепляет с образованием кислоты и газа глюкозу, сахарозу, лактозу, мальтозу, галактозу, левулезу. Отношение, разных штаммов к сахарам непостоянно, однако реакции на сахарозу и салицин являются индикаторными: *C. chauvoei* в отличие от *C. septicum* ферментирует сахарозу и не сбрасывает салицин.

Антигенная структура. В составе антигенов возбудителя эмфизематозного карбункула выделены термостабильный соматический О-антиген и термолабильный жгутиковый Н-антиген. Они обладают видовой специфичностью и являются общими у всех штаммов. Однако имеются наблюдения, что Н-антиген *C. chauvoei*, выделяемого от крупного рогатого скота и овец, различен. Кроме того, дифференцирован спорный S-антиген, общий с *C. septicum*, что приводит к перекрестной агглютинации у этих двух клостридий.

Факторы патогенности. Возбудитель эмфизематозного карбункула синтезирует и выделяет экзотоксин. Образование его происходит как в организме, так и при выращивании микроба в жидких питательных средах. Токсин обладает антигенной функцией и при обработке формалином переводится в анатоксин.

Постинфекционный иммунитет. Профилактика. У крупного рогатого скота и овец естественного иммунитета нет, но с возрастом восприимчивость их к данному заболеванию снижается. В результате переболевания животные приобретают длительный активный иммунитет. По своей природе иммунитет при эмфизематозном карбункуле антитоксический и антимикробный.

Для иммунизации используют концентрированную гидроокись-алюминиевую формолвакцину против эмфизематозного карбункула крупного рогатого скота и овец. Иммунитет после прививки этой вакциной наступает через 14 дней и продолжается до

6 месяцев. Предложена также живая вакцина из штамма №2/14. Она безвредна для крупного рогатого скота и обеспечивает формирование иммунитета через 4—5 дней, который продолжается более 12 мес.

Лабораторная диагностика. Материалом для лабораторного диагноза служат кусочки пораженных мышц, отечный экссудат, кровь, взятые тотчас после гибели животного. Необходимо помнить, что вскрытие трупов животных, погибших от эмфизематозного карбункула, недопустимо. Поэтому кусочки мышц отбирают без полного вскрытия трупа. Если же труп случайно вскрыт, берут кусочки паренхиматозных органов.

Исследование проводят по схеме: микроскопия мазков, посевы на питательные среды в анаэробных и аэробных условиях и заражение лабораторных животных.

Чистую культуру *S. chauvoei* удастся выделить, если посевы проводят сразу же после гибели животного. Но, как правило, материал бывает сильно загрязнен посторонней микрофлорой. Поэтому применяют ряд методов подавления сопутствующей микрофлоры. Материал можно высушить в термостате, при этом вегетативные клетки гибнут, споры сохраняют жизнеспособность. Рекомендуется также проводить посев на жидкую элективную среду с добавлением фенола, кристаллвиолета или азида натрия, которые ингибируют постороннюю микрофлору. Иногда материал прогревают при температуре 80 °С в течение 15 мин. В необходимых случаях изучают сахаролитические и протеолитические свойства культуры. Для окончательного диагноза необходима биопроба.

Возбудители злокачественного отека

Злокачественный отек (газовая гангрена)— острая неконтагиозная раневая инфекция, вызываемая группой патогенных клостридий. Заболевание характеризуется быстро распространяющимся болезненным отеком мягких тканей, их разрушением, образованием в пораженных тканях газа и интоксикацией организма. Встречается злокачественный отек в виде спорадических случаев повсеместно. Обычно болезнь развивается после обширных и глубоко проникающих ранений. Поражает животных и человека. У крупного рогатого скота злокачественный отек может наблюдаться после отелов, особенно тяжелых, сопровождающихся повреждениями и ранениями родовых путей, а также после абортот.

Злокачественный отек — заболевание полимикробной этиологии. В развитии инфекционного процесса основную роль играют следующие виды бактерий, из рода клостридий: *C. septicum*, *C. perfringens*, *C. novyi*, *C. histolyticum* и *C. sordellii*. *Возбудителей газовой гангрены* по степени патогенности принято делить на три группы. Первая группа включает наиболее патогенные виды, каждый из которых может вызывать газовую гангрену (*C. perfringens*, *C. novyi* и *C. septicum*). Во вторую группу входят клостридий, обладающие менее патогенными свойствами (*C. histolyticum*, *C. bifermentans*, *C. sporogenes*, *C. fallax*). Каждый из них также способен самостоятельно вызывать газовую гангрену, но чаще при этом заболевании они встречаются вместе с другими анаэробами. Третья группа представлена маловирулентными клостридиями, не способными вызывать развитие газовой гангрены, однако, присоединяясь к возбудителям первой или второй группы, они существенно ухудшают течение болезни. К ним относятся *C. tertium*, *C. butyricum*, *C. sordellii* и некоторые другие. В патогенезе газовой гангрены важную роль играет и сопутствующая микрофлора (стафилококки, стрептококки, энтеробактерии и другие возбудители).

Чаще всего газовая гангрена развивается после обширных и глубоких проникающих ранений мягких тканей.

Морфологические свойства. Все они, кроме *C. perfringens*, подвижны, перитрихи имеют 15—20 жгутиков. *C. perfringens* в организме человека или животных может образовывать капсулу.

C. septicum - полиморфная грамположительная палочка с субтерминальными спорами, строгий анаэроб. В зависимости от состава среды она может превращаться в короткие вздутые формы и длинные нити. Последние, кстати, часто обнаруживаются в трупах животных на поверхности печени, прилегающей к диафрагме.

C. sordellii - грамположительная палочка, образующая овальные, центральные и субтерминальные споры на обычных средах. Перитрих, подвижна в свежих культурах, нестрогий анаэроб.

Культуральные свойства. У различных видов кластридий различаются, но обычно они блестящие, полупрозрачные с неровными краями (рис.).

На поверхности плотных питательных сред только через 48 ч *C. septicum* образует блестящие полупрозрачные колонии диаметром до 4 мм с неровными бахромчатыми краями, имеет тенденцию к ползучему росту, чаще образует колонии R-формы. В глубине 1 %-ного агара образует колонии диаметром 1—2 мм с уплотненным центром и радиально отходящими перепутанными нитями. В 2 %-ном агаре колонии имеют вид чечевиц, сердца и т. п., иногда с протуберанцами. На кровяном агаре узкая зона гемолиза появляется вокруг колонии только на вторые сутки.

На поверхности питательных сред *C. sordellii* через сутки-двое образует слабовыпуклые серовато-белые колонии с неровным краем. На кровяном агаре (эритроциты лошади) колонии окружены узкой зоной гемолиза. В глубине агара колонии имеют форму чечевиц или сердца с выростами по краю.

Биохимические свойства. Большинство штаммов обладает протеолитическими свойствами, медленно расплавляя свернутую сыворотку (вареные кусочки мяса) на 2—7-й день. Многие штаммы вырабатывают ферменты, расплавляющие 7 %-ную желатину через 24 ч. Характерным для *C. perfringens* является способность свертывать лакмусовое молоко с образованием сгустка кирпичного цвета и полным просветлением молочной сыворотки. Все штаммы ферментируют с образованием кислоты и газа глюкозу, галактозу, мальтозу, лактозу, левулезу, сахарозу и не ферментируют маннит и дульцит. Некоторые штаммы разлагают глицерин и инулин.

C. septicum ферментирует с образованием кислоты глюкозу, мальтозу, лактозу, галактозу, фруктозу, салицин и не разлагает глицерин и маннит, разжижает желатин и свертывает лакмусовое молоко с образованием кислоты и газа. Очень редко разлагает сахарозу. Не образует индола, не восстанавливает нитраты в нитриты и не вырабатывает большого количества сероводорода.

C. sordellii ферментирует мальтозу, глюкозу и фруктозу, не разлагает лактозу и сахарозу. Разжижает желатин и свернутую сыворотку, вырабатывает сероводород и индол.

Антигенная структура. У всех видов имеется соматический – O-антиген и жгутиковый – H-антиген, у *C. perfringens* имеется капсульный.

Факторы патогенности. Деление патогенных кластридий на варианты связано с их способностью вырабатывать различные по антигенным свойствам летальные и некротические токсины. Например, *C. perfringens* вырабатывает более десятка различных токсинов и ферментов.

В развитии типичной картины газовой гангрены наибольшую роль играет лецитиназа а-токсин, который обладает летальными, гемолитическими и дермонекротическими свойствами. Этот токсин вызывает не только местные изменения в мышечной ткани — коагуляционный и колликвационный некроз здоровой ткани, но и тяжелую интоксикацию организма больного с выраженным нарушением кровообращения, гемолитической анемией, угнетением эритро- и лейкопоэза, поражением паренхиматозных органов и костного мозга. Некоторую роль в этом разрушительном процессе могут играть другие ферменты (коллагеназа — летальный и некротический фактор; гемолизин; гиалуронидаза; дезоксирибонуклеаза и др.).

Постинфекционный иммунитет антитоксический. Пассивный иммунитет достигается введением паливалентной антитоксической сыворотки.

Лабораторная диагностика. Выделение и идентификацию возбудителей анаэробной инфекции осуществляют в три этапа.

На первом этапе исследования производят микроскопию нативного материала, биологическую пробу на лабораторных животных и посев на питательные среды. Из поступившего материала готовят несколько мазков на предметных стеклах для последующей окраски по Граму (для изучения морфологии и грампринадлежности бактерий), по Цилю — Нильсену (для обнаружения спор) и по Бурри (для обнаружения капсул).

Поступившие для исследования кусочки тканей и органов переводят в жидкую фазу. Подготовленный для посева материал разделяют на две равные части, одну из которых прогревают на водяной бане при температуре 80 °С в течение 20 мин. Эта процедура позволяет избавиться от находящихся в пробе вегетативных клеток бактерий и существенно упростить выделение спорообразующих анаэробов. Исследования нагретого и ненагретого материала в дальнейшем ведут параллельно. Для выделения клостридий из нативного материала чаще всего используют анаэробный кровяной агар, среду Китта — Тароцци, сахарный агар и другие среды.

Целью второго этапа бактериологического исследования является получение изолированных колоний облигатных анаэробов. В глубине плотной питательной среды клостридии имеют вид дисков, чечевичек, клубочков шерсти, хлопьев и др. При этом многие возбудители газовой гангрены (*C. novyi*, *C. perfringens* и др.) вызывают многочисленные разрывы плотной питательной среды за счет интенсивного газообразования.

После посева подозрительных колоний в глубину плотной питательной среды или среды Китта — Тароцци изучают морфологию колоний колония состоит из морфологически однородных микробов, культура считается чистой и подлежит проверке на аэротолерантность. С этой целью часть колонии переносят на сектор кровяного агара и инкубируют 24—48 ч при температуре 37 °С в аэробных условиях. Облигатные анаэробы не будут давать роста в этих условиях.

На третьем этапе выросшие в СКС или среде Китта — Тароцци микроорганизмы после проверки на чистоту культуры подлежат дальнейшей идентификации. Сахаролитические свойства анаэробов проверяют путем посева чистой культуры на среды «пестрого» ряда, включающего глюкозу, лактозу, галактозу, леулузу, сахарозу, мальтозу, глицерин и некоторые другие углеводы. Протеолитические свойства изучают на питательных средах, содержащих кусочки печени (среда Китта — Тароцци) или свернутого куриного белка. Лецитиназную активность клостридии учитывают на желточном агаре. Предварительную идентификацию микроорганизмов проводят на

основании анализа комплекса морфологических, куль-туральных и биохимических свойств.

Окончательная идентификация основана на выявлении экзотоксина и его инактивации специфическим антитоксином в реакции нейтрализации на лабораторных животных. Для идентификации клостридиальной инфекции с помощью метода газовой хроматографии (ГХ) основана на обнаружении в исследуемом материале летучих жирных кислот (ЛЖК), являющихся специфическими продуктами метаболизма анаэробов (пропионовой, масляной, изокапроновой и др.). Изучение спектра ЛЖК позволяет определить род, а в ряде случаев и вид анаэробных микроорганизмов.

Методы ускоренной диагностики газовой гангрены включают посев нативного материала на среду Вильсона — Блера и лакмусовое молоко.

Посев патологического материала на среду Вильсона—Блера позволяет получить ориентировочный ответ о наличии в исследуемой пробе *C. perfringens* уже через 4—6 ч культивирования при температуре 42 °С. Об этом свидетельствуют почернение питательной среды и появление множественных разрывов агара вследствие интенсивного газообразования. При посеве содержащего *C. perfringens* материала в пробирку с лакмусовым молоком через 2—4 ч культивирования при температуре 42 °С в среде наступают характерные изменения: образуются кирпично-красный, пронизанный пузырьками газа творожистый сгусток казеина и прозрачная сыворотка.

14.3 Кишечные клостридиозы

Развиваются как инфекции, поражающие тонкий кишечник и вызывающие энтеротоксемию. Поражение кишечника у овец называют браздотом. К возбудителям браздота относят *C. septicum*. Инфекционную анаэробную энтеротоксемию вызывают *C. perfringens*. Свойства этих клостридий описаны выше.

Вопросы для самоконтроля

1. Каким образом, исследуя окрашенный мазок культуры спорообразующих бактерий, можно определить наличие клостридий и бацилл?
2. Какие вы знаете способы культивирования клостридий?
3. Какие питательные среды следует использовать для культивирования анаэробов?
4. Охарактеризуйте клинические признаки и патогенез столбняка у животных и человека.
5. Опишите морфологические признаки возбудителя столбняка.
6. Охарактеризуйте рост возбудителя столбняка на плотных и жидких питательных средах.
7. Дайте характеристику столбнячному токсину. Охарактеризуйте механизм его действия на организм животного.
8. Охарактеризуйте устойчивость вегетативных и споровых форм возбудителя столбняка.
9. Какие ткани и органы следует направлять в лабораторию при столбняке и как следует проводить бактериологическую диагностику данного заболевания?
10. Охарактеризуйте механизм попадания ботулинического токсина в организм животного.
11. Опишите морфологические признаки возбудителя ботулизма. Как выглядит микроорганизм, вызывающий ботулизм, при исследовании под микроскопом?
12. Какие серовары ботулинической клостридии вы знаете?
13. Охарактеризуйте рост возбудителя ботулизма на плотных и жидких питательных средах
14. Расскажите о биохимических признаках возбудителя ботулизма.
15. Дайте характеристику ботулиническому токсину. Охарактеризуйте механизм его действия на организм животного.
16. Расскажите об этапах лабораторной диагностики ботулизма у животных.

17. Как называется возбудитель эмкара?
18. Охарактеризуйте клинику и патогенез эмкара.
19. Опишите морфологические признаки возбудителя эмкара.
20. Охарактеризуйте рост возбудителя эмкара на плотных и жидких питательных средах.
21. Дайте характеристику токсина, вырабатываемого возбудителем эмкара.
22. Какова лабораторная диагностика эмкара, какие органы и ткани следует направлять в лабораторию?
23. Возможно ли создать иммунитет у животных при клостридиозах? Какие существуют для этого препараты?
24. Перечислите возбудителей злокачественного отека у животных.
25. Опишите морфологические признаки известных вам возбудителей злокачественного отека.
26. Охарактеризуйте культуральные признаки возбудителей злокачественного отека.
27. Какие токсические вещества выделяют возбудители злокачественного отека?
28. Охарактеризуйте этапы лабораторной диагностики при анаэробных инфекциях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. Госманов, Р.Г. Микробиология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.К. Галиуллин, А.Х. Волков, А.И. Ибрагимова. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2017. — 496 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/91076>.
2. Госманов, Р.Г. Микробиология и иммунология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.И. Ибрагимова, А.К. Галиуллин. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2013. — 240 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/12976>.
3. Колычев, Н.М. Ветеринарная микробиология и микология. [Электронный ресурс] / Н.М. Колычев, Р.Г. Госманов. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2014. — 624 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/39147>

Дополнительная

4. 1 Ветеринарная микробиология и иммунология : учебник / Г. В. Дунаев, Н. М. Колычев, Н. А. Радчук ; ред. Н. А. Радчук. - М. : Агропромиздат, 1991. - 383 с. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 5-10-001805-4;

Лекция 15

Возбудители туберкулеза и паратуберкулеза. Морфологические, культуральные, биохимические свойства возбудителей. Диагностика

15. 1 Возбудители туберкулеза и паратуберкулеза, виды патогенных микобактерий

Туберкулез – это хронически протекающая инфекция. Возбудителей туберкулеза человека и крупного рогатого скота открыл Р. Кох птичий вид - Штраус и Гамалея.

Возбудители туберкулеза и паратуберкулеза относятся к роду *Mycobacterium*. В этом роду бывают неvirulentные виды – сапрофиты, обитающие в почке и воде (атипичные микобактерии), условно-патогенные и облигатные паразиты, поражающие теплокровных и холоднокровных животных.

Для человека и животных патогенными являются *M.tuberculosis*, *M. bovis*, *M.avium*, а для животных – *M. paratuberculosis*. Инфекция, вызываемая *M.tuberculosis*, первоначально была инфекцией человека и человекоподобных приматов, однако в настоящее время к этому виду стали чувствительными собаки, свиньи, попугайные, канарейки и другие виды животных. *M. bovis* поражают в основном крупный рогатый скот, но могут вызывать заболевание и у людей, у свиней и других животных. *M.avium* является патогеном для птиц, но может поражать людей с иммунодефицитом, свиней, крупный рогатый скот. При туберкулезе поражаются лимфатические узлы, в которых обнаруживают специфический творожистый некроз, а при генерализации процесса во внутренних органах возникают множественные бугорки из клеток – туберкулезные гранулемы, которые подвергаются распаду. У птиц поражаются суставы и кости, наступает хромота, гранулемы обнаруживаются в печени и селезенке. У человека могут поражаться любые органы и ткани

Микобактерии паратуберкулеза поражают крупный и мелкий рогатый скот, свиней и кроликов. По имени автора эту болезнь называют болезнью Иона. При паратуберкулезе поражается слизистая оболочка тонкого кишечника, нарушается всасывание пищи, животные худеют из-за постоянных поносов, в конечном итоге наступает смерть.

В настоящее время принято исследовать микобактерии, которые названы атипичными. Их изолируют не только от людей и животных, больных туберкулезом, но и в условно благополучных стадах от животных. Эти микобактерии вызывают сенсibilизацию макроорганизма и при постановке пробы с туберкулином дают положительную реакцию. Некоторые атипичные микобактерии могут вызывать хронические заболевания, по клинике напоминающие туберкулез, а при лабораторной диагностике их идентификация вызывает затруднение.

Наибольшее распространение получила классификация Раньона, основанная на двух свойствах — образование пигмента и скорости роста. Раньон делит атипичные микобактерии на четыре группы:

первая — фотохромогенные микобактерии, приобретающие темно-оранжевую окраску при выращивании на свету. В полной темноте они не образуют пигмента. Основной представитель — *M. kansasii*;

вторая — фотохромогенные микобактерии, приобретающие ярко-оранжевую окраску независимо от того, выращивались ли они на свету или в темноте. Основные представители — *M.scrofulaceum*, *M. gordonae*, *M.aquae*;

третья — нефотохромогенные микобактерии. Могут быть неокрашенными или иметь желтовато-оранжевые оттенки. Однако пигментация не зависит от экспозиции на свету. Основные представители этой группы *M. intracellulare*, *M. battey*;

четвертая — быстрорастущие микобактерии. В течение недели при температуре 25 и 37°C они образуют колонии. Представители — *M. phlei*, *M. smegmatis*. Последний вид можно отнести к условно патогенным, т.к. он может служить этиологическим фактором раневой инфекции у кошек.

15.2. Морфологические и биологические свойства микобактерий

Морфологические свойства. Микобактерии представляют собой прямые или слегка изогнутые палочки. Но могут быть нитевидными и ветвящимися. В организме способны превращаться в L- формы. Все микобактерии кислото-, спирто- и щелочеустойчивые микроорганизмы. Они неподвижны, спор и капсул не образуют. Размеры клеток одной и той же культуры могут значительно варьировать — длина от 1,5 до 4, ширина от 0,2 до 0,5 мкм. Особенно это заметно в культурах разных возрастов. В клеточной стенке микобактерий содержится много миколовой кислоты из-за которой они с трудом воспринимают окраску по Граму, хотя они грамположительные. Для окрашивания мазков применяют метод Циля-Нильсена с протравливанием стенок карболовой кислотой при нагревании и одновременной окраской фуксином. Окрашенные таким методом микобактерии приобретают красный цвет, а другие бактерии неокислотоустойчивые окрашиваются второй краской в синий цвет.

В цитоплазме могут встречаться зерна Муха, вакуоли и полости, число которых может возрастать в клетках, подвергнутых воздействию химических агентов.

Культуральные свойства. Бактериология микобактерий является трудоемкой и сложной, т.к. очень медленно растут (время генерации составляет 300 минут, а у кишечной палочки — 20 минут), а также они достаточно прихотливы. Кроме того бактериологический метод позволяет выявить микроорганизмы не у всех заболевших. А только у 50-70%. В современных лабораториях требуется в среднем 34 дня, чтобы выделить и идентифицировать микобактерии и еще 2-3 недели для определения их лекарственной устойчивости. Из-за длительного роста микобактерии подразделяют на: 1) быстрорастущие виды, колонии которых образуются на питательной среде мене, чем за 7 суток (*M. phlei*); 2) медленно растущие (2-4 недели) — *M. tuberculosis*, *M. bovis*; 3) очень медленно растущие (в течение 5 недель) — *M. paratuberculosis*.

Микобактерии туберкулеза способны размножаться в строго аэробных условиях на сложных селективных питательных средах: среда Левенштейна-Йенсена, содержащая картофельную муку, яйца, глицерин, соли; среда Петраньяни, в которую наряду с упомянутыми компонентами входят еще молоко и кусочки картофеля; картофельно-глицериновая среда; глицериновый бульон. Для подавления посторонней микрофлоры в среду добавляют малахитовую зелень или антибиотики (пенициллин, налидиксовую кислоту, амфотерицин В, полимиксин). Для ускорения роста микобактерий используют жидкие среды (среда Сотона, Школьниковой)

Оптимальная температура для каждого вида микобактерий своя: 37—38 °C для человеческого, 38—39 °C для бычьего и 39—41 °C для птичьего вида.

Для ускорения выращивания микобактерий и освобождения от посторонней микрофлоры можно использовать метод Гона или метод Прайса. Суть обоих методов состоит в наличии кислотоустойчивости у микобактерий. *Метод Гона:* кусочки пораженных органов растирают и обрабатывают серной кислотой, которая убивает неокислотоустойчивые микробы, затем центрифугируют и высевают на питательную

среду. Метод Прайса: вначале делают мазки на стекле, высушивают, затем выдерживают 5 мин в 5 %-ном стерильном водном растворе серной кислоты. Кислоту нейтрализуют стерильной дистиллированной водой, а мазок помещают в жидкую питательную среду. Такая среда обеспечивает появление роста микобактерий стеклах через 2—6 дней в виде кос и жгутов за счет соединения микроорганизмов корд-фактором. Корд-фактор – это гликолипид клеточной стенки. Вирулентные микобактерии содержат корд-фактор больше, чем авирулентные.

Культуральные признаки позволяют дифференцировать микобактерии разных видов. На жидких питательных средах *M.tuberculosis* образуют толстую морщинистую пленку, *M. bovis* – тонкую пленку, *M.avium* – влажно-слизистую, а *M. paratuberculosis* – нежную серо-белую пленку, которая через 3-4 месяца увеличивается в объеме, а затем опускается на дно. На плотных питательных средах *M.tuberculosis* образует шероховатые колонии в виде бородавок - морщинистые суховатые с неровными краями, цвета слоновой кости. Этот вид нуждается в глицерине для своего роста. *M. bovis* растет и в виде R-формы и в виде S-формы. R-форма –небольшие, слегка выпуклые с менее изрезанными краями серо-белого цвета. В глицерине этот вид не нуждается. *M.avium* растет в виде мягких серо-белого цвета гладких колоний.*M. paratuberculosis* культивируется с большим трудом. Для их роста требуется в среду добавить материал от убитых микобактерий- микобактин. Этот вид растет вначале в виде серо-бело-желтых маленьких колоний, которые затем приобретают вид сосочков, а затем становятся складчатыми.

Биохимические свойства. Микобактерии обладают каталазой. характеризуются высокой сахаролитической активностью, разлагая многие сахара, глицерин, разлагают мочевины (кроме *M.avium*), некоторые виды вырабатывают никотиновую кислоту (*M.tuberculosis*), восстанавливают нитраты в нитриты (кроме *M. bovis*), теллурит, гидролизуют Твин-80, разлагают белок.

Антигенная структура включает белки, полисахариды и липиды в виде полисахариодно-белково-липоидного комплекса, названного полным антигеном.

15.3. Факторы патогенности, иммунитет

Факторы патогенности. Микобактерии не образуют экзотоксин, но при росте в жидкой питательной среде в нее попадают продукты распада микробных клеток. Фильтрат из культуральной жидкости, названный старым туберкулином Коха (альтотуберкулин) содержит белок и примеси. Зилббер получил очищенный препарат, не содержащий примеси и назвал его PPD (очищенный протеиновый дериват), который используют для постановки кожной и внутрикожной пробы для выявления аллергической перестройки в макроорганизме. Кроме этих факторов патогенности следует указать липиды, которые при введении морским свинкам вызывают образование во внутренних органах гранулем, а также корд-фактор, который угнетает миграцию лейкоцитов, фагоцитоз, вызывает образование гранулем.

Постинфекционный иммунитет при туберкулезе нестерильный, клеточный. Имеется аллергическая перестройка в организме животного. Аллергическую пробу ставят при подкожном введении туберкулина в область средней трети шеи крупному рогатому скоту, на наружную поверхность уха свиньям, курам - в толщу кожи бородки, уткам и гусям в подчелюстную складку кожи. Учет реакции проводят через 72 часа, у птиц – через 30-36 часов. В случае положительной реакции складка кожи утолщается и образуется папула.

При паратуберкулезе иммунитет не изучен.

15.4. Диагностика туберкулеза и паратуберкулеза

Лабораторная диагностика туберкулеза. В качестве исследуемого материала можно использовать пораженные органы и ткани, кровь, экссудат, транссудат, гной, молоко, масло, творог, мочу, фекалии, навоз, почву, воду, соскобы с различных объектов животноводческих помещений. Для освобождения от посторонней микрофлоры молоко, мочу, слизь, пораженные органы и ткани обрабатывают по методу Гона 6—10 %-ным раствором серной кислоты в течение 25—30 мин.

Для обработки жидкого, полужидкого, кашицеобразного материала из соскобов с объектов среды обитания животных используют метод флотации. Сущность метода заключается в том, что исследуемый материал взбалтывают в колбе вместе с углеводородами (бензол, бензин и др.) и всплывающий слой пены содержащий микобактерии, называемый флотатом, используют для приготовления мазков, посевов на питательные среды и заражения лабораторных животных. У чистой культуры определяют видовую принадлежность. Одним из методов является культивирование в глицериновом бульоне с добавлением 5% желчи. Каждый вид микобактерий лучше растет в присутствии соответствующего вида (бычьего или птичьего).

Биопробу ставят на морских свинках, кроликах, при необходимости – на курах, проверенных аллергической пробой на отсутствие в организме микобактерий.

Для дифференциации выделенных культур берут двух кроликов массой не менее 1,5—2 кг и в краевую вену уха вводят суспензию культуры микобактерии в физиологическом растворе. Первому вводят 0,1; второму — 0,01 мг бактериальной массы. Возбудитель туберкулеза бычьего вида на протяжении 3 месяцев вызывает генерализованное поражение с образованием бугорков. При заражении микобактериями человеческого вида за этот же период возникают нетипичные туберкулезные очажки регрессивного характера. Возбудитель туберкулеза птичьего вида вызывает у кроликов септическую форму болезни без образования специфических патологоанатомических изменений с летальным исходом в течение 2—3 недели.

Параллельное заражение двух морских свинок такими же дозами культуры позволяет дифференцировать микобактерии туберкулеза птичьего вида, к которым они нечувствительны, в то время как микобактерии человеческого и бычьего видов у них вызывают изменения, типичные для туберкулеза.

У кур, зараженных внутривенно дозой в 1 мг бактериальной массы, микобактерии птичьего вида вызывают туберкулезные поражения селезенки, печени и кишечника. Куры к возбудителю туберкулеза человеческого и бычьего видов менее чувствительны.

Биохимический метод основан на различной ферментативной активности микобактерии разных видов.

Экспресс-диагностикой является метод флуоресцирующих антител. Из современных методов диагностики следует назвать ПЦР.

При паратуберкулезном энтерите, особенно в период его клинического проявления, в сыворотке крови животных при помощи РСК можно обнаружить антитела. В качестве антигена используют спиртовые, ацетоновые или эфирные экстракты бактерий Ионе, обработанных по специальным методикам.

Аллергическая диагностика. Паратуберкулезный скот реагирует на альттуберкулин для птиц в 80 % и на паратуберкулин (ионин) в 94 % случаев. Паратуберкулин - это — фильтрат убитой кипячением 2—3-месячной культуры паратуберкулезных микобактерии, выращенной на специальной синтетической безбелковой среде. Кроме этого, используют альттуберкулин для птиц и стандартный сухой очищенный туберкулин для птиц. Крупный рогатый скот исследуют двойной внутрикожной аллергической пробой.

Реакцию учитывают после первого введения через 48 ч с помощью измерения величины кожной складки кутиметром. Положительной реакцией считают появление на месте введения туберкулина разлитого отека.

Вопросы для самоконтроля

1. Охарактеризуйте признаки туберкулеза у животных.
2. Опишите пути проникновения микобактерий в организм животных и человека.
3. Почему ветеринару следует знать группы атипичных микобактерий?
4. Назовите виды патогенных микобактерий.
5. Опишите морфологические признаки микобактерий разных видов.
6. Какие методы окраски микобактерий вы знаете?
7. Почему микобактерии плохо окрашиваются по Граму?
8. Опишите рост микобактерий разных видов на плотных и жидких питательных средах?
9. Охарактеризуйте методы ускоренной диагностики туберкулеза у животных.
10. Какие антигены известны у микобактерий?
11. Какова устойчивость микобактерий в окружающей среде?
12. Какие методы дезинфекции следует применять при туберкулезе?
13. Опишите этапы лабораторной диагностики туберкулеза у животных.
14. Как следует поступать с животным, больным туберкулезом?
15. Охарактеризуйте клинические проявления паратуберкулеза?
16. Опишите морфологические признаки микобактерии паратуберкулеза.
17. Какие методы культивирования паратуберкулезной микобактерии вы знаете?
18. Как следует проводить лабораторную диагностику паратуберкулеза?
19. Опишите серодиагностику и аллергическую диагностику паратуберкулеза у животных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

Основная

1. Госманов, Р.Г. Микробиология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.К. Галиуллин, А.Х. Волков, А.И. Ибрагимова. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2017. — 496 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/91076>.
2. Госманов, Р.Г. Микробиология и иммунология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.И. Ибрагимова, А.К. Галиуллин. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2013. — 240 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/12976>.
3. Колычев, Н.М. Ветеринарная микробиология и микология. [Электронный ресурс] / Н.М. Колычев, Р.Г. Госманов. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2014. — 624 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/39147>

Дополнительная

1. Ветеринарная микробиология и иммунология : учебник / Г. В. Дунаев, Н. М. Колычев, Н. А. Радчук ; ред. Н. А. Радчук. - М. : Агропромиздат, 1991. - 383 с. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 5-10-001805-4;

Лекция 16

Возбудители эшерихиоза, сальмонеллеза Морфологические, культуральные, биохимические свойства возбудителей. Диагностика. Профилактика

Эшерихиозы (колибактериозы) и сальмонеллезы вызываются микроорганизмами, относящимися к одному семейству Enterobacteriaceae, и поэтому имеют много общих признаков. Сальмонеллы произошли от кишечных палочек около 100 млн лет тому назад/

16.1. Возбудитель колибактериоза

Колибактериоз – это острая инфекционная болезнь, которая в основном поражает молодняк сельскохозяйственных животных, включая жвачных, свиней, лошадей, кроликов, домашнюю птицу, а также собак и кошек, у которых развиваются поражения токого кишечника – энтериты и сепсис. У жвачных кроме того могут быть маститы, у собак – циститы, у поросят – отечная болезнь, у кур – омфалиты. Заражение происходит в первые дни и недели после рождения. Большую роль играют предрасполагающие факторы: нарушение эмбрионального развития, антисанитарные условия, несвоевременная выпойка молозива у млекопитающих. Молодняк заражается преимущественно алиментарно, но входными воротами могут быть и дыхательные пути, пупочная рана, а также внутриутробный путь заражения.

Морфологические свойства. Обычные обитатели кишечника животных и человека непатогенные кишечные палочки и высокопатогенные *Escherichia coli* морфологически не отличаются друг от друга. Они представляет собой полиморфные палочки с закругленными концами длиной 1—3 и шириной 0,3—0,6 мкм. В мазке располагаются поодиночке, реже парно. По Граму красятся отрицательно, спор не образуют, отдельные серовары (08, 09, O101) образуют капсулы. Большинство штаммов бактерий подвижно (перитрихи), но встречаются и неподвижные. У кишечной палочки имеются пили.

Культуральные свойства. Микроорганизм неприхотлив и может хорошо расти на обычных плотных и жидких питательных средах при температуре 37—38 °С, и pH среды близкой к нейтральной (7,0—7,4). *E. coli* является аэробом или факультативным анаэробом. На мясопептонном агаре колонии могут быть в S- и R-форме. Колонии в S-форме круглые, выпуклые, средней величины (2-3 мм в диаметре), влажные, блестящие, в проходящем свете могут быть прозрачными и непрозрачными, края колоний ровные. R-форма колоний плоская, поверхность сухая со слегка волнистым краем. Встречаются также крупные слизистые колонии – M-форма или мелкие и прозрачные. Дифференциально-диагностическими средами являются среды Эндо и Левина. На среде Эндо колонии могут быть темно-вишневого цвета с металлическим блеском или без него, могут быть розовыми. На среде Левина колонии темно-фиолетовые или черные. На кровяном агаре некоторые штаммы вызывают гемолиз. В мясопептонном бульоне интенсивное помутнение среды и наличие незначительного осадка, легко разбивающегося при встряхивании.

Биохимические свойства. *E. coli* обладает высокой ферментативной активностью за счет продукции сахаролитических и протеолитических ферментов: ферментирует с образованием кислоты и газа глюкозу, лактозу, маннит; сахарозу и дульцит ферментирует не постоянно. При разложении белков образует индол.восстанавливает нитраты в нитриты.

Антигенная структура. *E. coli* имеет сложную антигенную структуру. Она содержит три вида антигенов: О — соматический, К — капсульный, оболочечный и Н — жгутиковый.

О-антиген представляет собой соматический термостабильный липополисахаридно-белковый комплекс, не разрушающийся при нагревании 100 °С в течение 2,5 ч. Белковый компонент его обуславливает иммуногенные свойства, липоидный — токсичность (эндотоксин), полисахаридный — серологическую специфичность. Описано около 170 О-сероваров.

К-антиген по биохимической структуре представляет собой кислые полисахариды. Он состоит из группы антигенов трех видов: L, В и А. L-антиген термолабильный, разрушается при нагревании до 100 °С в течение 1 часа. Культуры, содержащие этот антиген, более токсичны для мышей, обладают некротизирующими свойствами, часто вызывают гемолиз эритроцитов. Колонии этих культур непрозрачны. В-антиген кипячению при 100 °С в течение 30 мин. утрачивает антигенные свойства, но сохраняет агглютинабельность. А-антиген-капсульный, полисахаридной природы, термостабильный, разрушается только при температуре 120 °С в течение 2,5 ч. Культуры, имеющие А-антиген непрозрачные, слизистые, устойчивы к фагоцитозу и бактериолизу. Известно около 97 различных К-антигенов, преимущественно В-типа.

Н-антигены, или жгутиковые, имеют белковую природу, характеризуются серологической обособленностью. Описано 56 разных Н-антигенов

Из-за большого количества серогрупп выделенные штаммы записывают в виде формулы, например, *E. coli* O26: K60(B6): H2.

У телят наиболее часто заболевание вызывают штаммы *E. coli* серогрупп: O8, O9, O15, O20, O26, O35, O78, O86, O101, O115, O119, O141.

У поросят — O8, O26, O33, O101, O138, O139, O141, O142, O149, O151, O157.

У ягнят — O4, O8, O9, O15, O20, O26, O35, O41, O78, O101, O137.

У птиц — O1, O2, O8, O15, O26, O55, O78, O11, O115, O126, O141.

Факторы патогенности.

Диареагенные *E. coli* вырабатывают термостабильный энтеротоксин-ST, термолабильный энтеротоксин — LT, цитотоксин — CT, шигоподобный токсин — SLT, веротоксин — VT, фактор колонизации — CF, фактор адгезии — EAF. Кроме того они обладают еще такими факторами патогенности как адгезины, способностью к инвазии.

По вирулентным свойствам штаммы *E. coli* делят на 4 патотипа:

- энтеротоксигенные (EТЕС);
- энтеропатогенные (ЕРЕС);
- энтерогеморагические (ЕУЕС);
- некротоксигенные (NТЕС).

Энтеротоксигенные E. coli проявляют свою активность в тонком кишечнике, вызывая у всех млекопитающих диарею, за которой может следовать бактериемия. Они прикрепляются к энтероцитам посредством пилей, а вырабатываемый ими энтеротоксин вызывает усиленное выделение жидкости в просвет кишечника. *Энтеропатогенные E. coli* проявляют свое действие и в тонком, и в толстом кишечнике, вызывая у животных поносы (у кроликов, свиней, крупного рогатого скота, щенят). Имеет место повреждение щеточной каймы энтероцитов. *Энтерогеморагические E. coli* локализуются в толстом кишечнике, вызывая у крупного рогатого скота геморрагические колиты. Токсин, выделяемый этими микроорганизмами, подобен

шигеллезному, который образуют возбудители дизентерии человека. Он вызывает отек стенки кишечника и кровоизлияния. *Некротоксигенные E.coli* локализуются в тонком кишечнике свиней и крупного рогатого скота. Микробы колонизируют кишечник, вызывая некроз эритроцитов.

Постинфекционный иммунитет. Иммунитет у переболевших животных гуморальный. Для предотвращения гибели молодняка, у которых факторы естественной защиты еще развиты слабо и не в состоянии обеспечить защиту от патогенных эшерихий, предотвращение заболевания осуществляют еще до их рождения. Для этого в неблагополучных хозяйствах с целью создания колострального иммунитета вакцинируют стельных коров, супоросных свиноматок, суягных овец. За 1—2 месяца до отела, опороса, окота, вводят ГОА-формолтиомерсальную вакцину.

Для телят кроме того используют колипротектант ВИЭВ (взвесь убитой нагреванием культуры эшерихий одной серогруппы, отмытой от токсинов и консервированной формалином). Вводят его перорально в дозе 10—15 мл за 30 минут до выпойки молозива и затем по 10 мл 5 раз с молозивом в течение 2 дней.

Родительское стадо птиц для создания трансвариального иммунитета аэрозольно вакцинируют инактивированной вакциной против колибактериоза за 7—10 дней до взятия от кур яиц на инкубацию. Пассивный иммунитет у цыплят, полученных из яиц вакцинированных кур, сохраняется до 20 дней. В дальнейшем цыплят и взрослую птицу вакцинируют с целью получения активного иммунитета аэрозольно или перорально (с питьем) согласно наставлению.

Для профилактики и терапии колибактериоза используют поливалентную иммунную сыворотку согласно наставлению. С целью профилактики применяют бактериофаг против паратифа и колибактериоза с питьем по схеме в течение нескольких дней. Из средств активной терапии используют антибиотики с учетом чувствительности к ним эшерихий.

Лабораторная диагностика. В лабораторию направляют 2-3 свежих трупа животных, не подвергавшихся лечению. Если животное крупное, то направляют сердце с перевязанными крупными сосудами, трубчатую кость, кусочек печени с желчным пузырем, селезенку, отрезки кишечника, перевязанные с двух сторон, почку, брыжеечные лимфатические узлы. Патологический материал можно консервировать 20% водным раствором глицерина или 30% раствором хлористого натрия.

В лаборатории первый день делают посевы из патологического материала в общеупотребимые плотные и жидкие питательные среды, а также на чашки со средой Эндо или Левина, готовят и микроскопируют мазки. На второй день просматривают среды, производят пересев колоний в мясопептонный бульон и после 4-х дневного инкубирования в термостате делают посев на среды с углеводам, и на МПА для приготовления антигена и заражения белых мышей или цыплят. На третий день готовят и исследуют под микроскопом мазки, предварительно учитывая ферментативные свойства. Затем заражают белых мышей (цыплят), готовят антиген и ставят реакцию для определения серогрупповой принадлежности. На четвертый день учитывают результаты биопробы и развернутой реакции агглютинации. Определяют чувствительность культур к антибактериальным препаратам. На пятый день учитывают результаты биопробы и чувствительности культуры к антибиотикам. На шестой-седьмой день подводят окончательные результаты биопробы и изучения ферментативных свойств культур.

Культура эшерихии считается патогенной в случае гибели одной или более мышей в течение 2 суток после заражения при гибели в первые 4 дня после заражения цыплят. Патогенные культуры серологической типизации не подвергают.

Бактериологический диагноз на колибактериоз у млекопитающих считают установленным при выделении культур эшерихий из селезенки, костного или головного мозга без определения их патогенности и серологической принадлежности; при выделении не менее чем из двух органов животного культур эшерихий, патогенных для белых мышей или принадлежащих к О-серогруппам, признанным патогенными для животных. У птиц — при выделении патогенных для цыплят эшерихий из костного мозга, крови или печени.

16.2. Возбудитель сальмонеллеза

Сальмонеллезы представляют собой инфекционные заболевания преимущественно молодняка домашних и диких животных с возникновением у них лихорадки, септицемии, токсемии, поражения желудочно-кишечного тракта, органов дыхания, суставов. У беременных овец, кобыл, реже у коров возникают аборт, рождение нежизнеспособного потомства. У взрослых животных может быть бактерионосительство. Сальмонеллезом могут быть поражены куры, утки, гуси, индейки, голуби. Водоплавающие птицы служат резервуаром инфекции. У них сальмонеллы обнаруживаются в мясе, внутренних органах, яйцах. У молодняка птиц сальмонеллезы протекают остро и сопровождаются поносом и нервными явлениями. У взрослой птицы болезнь часто протекает латентно, реже как энзоотия, характеризующаяся септическим течением, расстройством деятельности кишечника. У людей заболевание течет, как пищевая токсикоинфекция.

Заражение млекопитающих происходит алиментарно, реже через органы дыхания, пупочную ранку, внутриутробно. Птицы заражаются алиментарным, аэрогенным, трансвариальным путями.

Род сальмонелл объединяет около 2500 сероваров, которые в настоящее время делят на 2 неравнозначные по численности группы: *Salmonella enterica* и *S. bongori*. *S. enterica* включает 2443 серовара, опасных для здоровья, а *S. bongori* – отсталые, которые утратили факторы патогенности.

Некоторые серовары *S. enterica* поражают определенных хозяев: *S. enterica* serovar typhi – человека, *S. enterica* serovar choleraesuis – свиней, *S. enterica* serovar dublin – крупный рогатый скот, *S. enterica* serovar abortus ovis – овец, *S. enterica* serovar pullorum, *S. enterica* serovar gallinarum – птиц. С 1970-х годов вспышки заболеваний животных (лошадей, крупного рогатого скота) и человека обусловлены *S. enterica* serovar newport, которое сопровождается высокой смертностью новорожденных.

Морфологические свойства. Сальмонеллы — мелкие палочки с закругленными концами от 1 до 4 мкм длины и 0,3—0,8 мкм ширины, в мазках располагаются одиночно, беспорядочно, подвижны (за исключением *S. pullorum-gallinarum*), спор и капсул не образуют, по Граму красятся отрицательно.

Культуральные свойства. Сальмонеллы — аэробы и факультативные анаэробы, имеющие оптимальную температуру роста 37 °С, рН среды 7,0—7,2, но они могут расти в пределах ниже 7,0 и выше 8,0. Хорошо растут на обычных питательных средах, на средах Эндо, Левина, Плоскирева, висмут-сульфитном агаре. На МПА образуют небольшие, диаметром от 1 до 4 мм, колонии, круглые, с ровными краями, серо-белого цвета с голубоватым оттенком. У некоторых видов сальмонелл по краю колонии заметен выпуклый слизистый вал. На среде Эндо колонии прозрачные

розоватого цвета, на среде Левина — прозрачные с голубоватым оттенком, на среде Плоскирева — бесцветные, плотные, слегка мутноватые, на висмут-сульфитном агаре — черного цвета с металлическим блеском. В МПБ при росте дают интенсивное помутнение на дне пробирки, осадок серо-белого цвета, на поверхности среды иногда образуется тонкая пленка или пристеночное кольцо.

Биохимические свойства у сальмонелл выражены меньше, чем у кишечной палочки. Микроорганизм ферментирует глюкозу, манит с образованием газа, другие сахара не ферментирует, образует сероводород. Реакция с метиловым красным положительная, утилизирует цитрат натрия. Биохимическая активность у сальмонелл различных сероваров варьирует.

Антигенная структура представлена соматическим О-антигеном и жгутиковым, или Н-антигеном. О-антиген расположен на поверхности микробной клетки. Он представляет собой термостабильный фосфолипидно-полисахаридный комплекс, не разрушающийся при кипячении в течение 2 ч. Он аналогичен О-антигену кишечной палочки. Описано 65 серогрупп, обозначаемых заглавными латинскими буквами и цифрой. Н-антиген существует в 2-х фазах – специфической (антигены первой фазы и неспецифической (антигены второй фазы). Если сальмонеллы содержат оба жгутиковых антигена, их называют двухфазными, если один — однофазными. В зависимости от наличия тех или иных антигенов сальмонеллы классифицируют. Классификация предложена 2 авторами – Кауфманом и Уайтом. Как и кишечные палочки серотип сальмонелл записывают в виде формулы, например: А О1.2, 12, Н 1а.

Для определения серовара сальмонелл биофабрики выпускают поливалентные О-сыворотки, О-моносыворотки, а также моноре-цепторные Н-сыворотки. Сыворотки используют в реакции агглютинации на стекле.

Факторы патогенности. Сальмонеллы устойчивы к воздействию факторов внешней среды. В почве и других объектах внешней среды сохраняются от 30 до 270 дней, в трупах — до 100 дней, в открытых водоемах и питьевой воде — от 11 до 120 дней, в замороженном мясе — от 6 до 13 месяцев, в колбасных изделиях — от 60 до 130 дней, в яйцах — более года, в яичном порошке — до 9 месяцев, на замороженных овощах и фруктах — от 2 недель до 2,5 месяцев. Обычное соление и копчение (в домашних условиях) не убивает сальмонелл.

Патогенные свойства сальмонелл обуславливаются в основном эндотоксином, который образуется в результате лизиса микробных клеток. Основным компонентом эндотоксина — полисахарид. Молекула его состоит из двух компонентов: полисахарида и липида А, который определяет токсичность всей молекулы. Эндотоксины вызывают геморрагическое воспаление кишечника, кормовое отравление у свиней и плотоядных. Сальмонеллы выделяют и экзотоксин в пищевые продукты.

Постинфекционный иммунитет. После переболевания у телят и поросят формируется напряженный и длительный иммунитет. Для накопления противосальмонеллезных антител в молозиве в стационарно неблагополучных по сальмонеллезу хозяйствах стельных коров вакцинируют концентрированной формолвакциной двукратно с 8-дневным интервалом за 30—45 дней до отела. Телят, полученных от вакцинированных коров, иммунизируют в возрасте 17—20 дней. Если не вакцинируют стельных коров, то телят от них вакцинируют с 8—10-дневного возраста двукратно с интервалом в 7 дней.

С профилактической целью в неблагополучных хозяйствах используют формолвакцину против паратифа поросят, приготовленную из штаммов сальмонелл: S.

choleraesuis, S. typhimurium, S. dublin. Указанной вакциной разрешается вакцинировать супоросных свиноматок, но не позднее 2 месяцев супоросности. С профилактической целью применяют сухую живую вакцину против паратифа свиней из штамма ТС-177. Вакцину готовят из аттенуированного штамма S. choleraesuis ТС-177. Прививают всех клинически здоровых поросят с 2-недельного возраста. Выпускают также ассоциированную поливалентную вакцину против паратифа, пастереллеза и диплококковой септицемии поросят. Вакцину применяют для вакцинации поросят и супоросных свиноматок с профилактической целью в хозяйствах, неблагополучных по паратифу, пастереллезу и диплококковой септицемии.

С целью профилактики сальмонеллеза у овец в неблагополучных хозяйствах используют поливалентную формолтиомерсальную вакцину.

У птиц вакцины против сальмонеллеза не существует

Лабораторная диагностика. Бактериологическая прижизненная диагностика основана на исследовании крови в первые 4 дня заболевания, истечений из родовых путей, носовой слизи и фекалий. Для серологического исследования с целью выявления специфических антител посылают сыворотку крови.

Посмертно в лабораторию направляют свежий труп мелких животных, в том числе птиц, от трупов крупных животных — паренхиматозные органы или части их (печень с желчным пузырем), селезенку, почку, мезентериальные лимфатические узлы, трубчатую кость, от телят — измененные участки легких; в случае аборта — свежий плод.

Полученный материал засевают в МПБ, на МПА и дифференциальную среду — Эндо, Плоскирева или висмут-сульфитный агар. При подозрении на хроническое течение болезни дополнительно высевают материал на одну из сред накопления (селенитовую, Мюллера). Сыворотку крови исследуют в РА с сальмонеллезным антигеном для установления титра специфических антител.

Полученные на средах культуры дифференцируют и идентифицируют на основании морфологических, культуральных, биохимических и антигенных свойств. Возможна постановка биопробы на белых мышах, которых заражают внутрибрюшинно. Для экспресс-диагностики применяют метод флуоресцирующих антител, окрашивая мазки-отпечатки сальмонеллезными флуоресцирующими сыворотками. С последующим просмотром под люминесцентным микроскопом. При наличии специфических поливалентных и типовых бактериофагов возможно проводить фаготипирование. Для этого в чашках Петри засевают суточную культуру сальмонелл, равномерно распределяют, а затем под углом наносят несколько капель фага, чтобы образовалась «дорожка» на пластинке агара. Чашку помещают в термостат на 24 ч. На месте стекающей капли фага, роста сальмонелл не будет.

Вопросы для самоконтроля

1. Какие инфекционные заболевания вызывают кишечные палочки, и у каких видов животных?
2. Где локализуются эшерихии и какой патогенез эшерихиоза?
3. Опишите морфологические и культуральные признаки у кишечной палочки.
4. Охарактеризуйте биохимическую активность эшерихий.
5. Какие антигены входят в формулу патогенного серовара кишечной палочки?
6. Какие факторы патогенности эшерихий вы знаете?
7. Опишите ход бактериологического анализа при колибактериозе.
8. Как можно осуществлять профилактику колибактериозов в хозяйствах?

9. Возможно ли по морфологическим признакам отличить эшерихий и сальмонелл?
10. Опишите, как растут сальмонеллы на различных средах. Какие среды следует использовать для культивирования сальмонелл?
11. Какие антигены сальмонелл положены в основу их классификации по Кауфману-Уайту?
12. Охарактеризуйте устойчивость сальмонелл во внешней среде.
13. В чем отличие первичных и вторичных сальмонеллезов?
14. Как следует проводить лабораторную диагностику сальмонеллеза?
15. Какие серовары сальмонелл вызывают заболевание у телят?
16. Какие серовары сальмонелл вызывают заболевание у свиней?
17. Какие серовары сальмонелл вызывают заболевание у овец?
18. Какие серовары сальмонелл вызывают заболевание у домашних птиц?

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. Госманов, Р.Г. Микробиология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.К. Галиуллин, А.Х. Волков, А.И. Ибрагимова. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2017. — 496 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/91076>.
2. Госманов, Р.Г. Микробиология и иммунология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.И. Ибрагимова, А.К. Галиуллин. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2013. — 240 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/12976>.
3. Колычев, Н.М. Ветеринарная микробиология и микология. [Электронный ресурс] / Н.М. Колычев, Р.Г. Госманов. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2014. — 624 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/39147>

Дополнительная

1. Ветеринарная микробиология и иммунология : учебник / Г. В. Дунаев, Н. М. Колычев, Н. А. Радчук ; ред. Н. А. Радчук. - М. : Агропромиздат, 1991. - 383 с. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 5-10-001805-4;

Лекция 17

Возбудители пастереллеза, иерсиниозов и кампилобактериоза. Морфологические, культуральные, биохимические свойства возбудителей. Диагностика. Профилактика

Пастереллы и иерсинии относятся к разным семействам, но имеют сходство по ряду признаков, прежде всего, по морфологии.

17.1. Возбудители пастереллеза

Пастереллез – это зоонозная инфекция, которой болеют многие сельскохозяйственные и домашние животные, синантропные грызуны – мыши и крысы. У крупного рогатого скота развивается геморрагическая септицемия и маститы, может быть пневмония, у свиней – пневмония, атрофический ринит, у кур заболевание носит название холеры, у кроликов - пастереллеза. У домашних животных (собак и кошек) болезнь протекает в виде абсцессов, у грызунов - в виде сепсиса. Человек заражается при укусе больными животными или слепнями.

Патогеном для животных является *Pasteurella multocida*, названная в честь автора, впервые открывшего этот микроорганизм – Л. Пастера. *Pasteurella multocida* ssp. *multocida* вызывает болезнь у домашних животных, *Pasteurella multocida* ssp. *gallicida* - у птиц, *Pasteurella multocida* ssp. *septica* – у кошек, собак, человека.

Морфологические свойства. *P. multocida* представляет собой грамотрицательные короткие (0,4—1,2 мкм длины, 0,3—0,4 мкм ширины) палочки – коккобактерии. При окраске по Романовскому — Гимза они имеют биполярное окрашивание, т.е. интенсивно окрашиваются по полюсам. В мазке располагающихся одиночно, попарно, реже в виде цепочек (в мазках из бульона). Бактерии неподвижные, образуют слизистые капсулы.

Культуральные свойства. *P. multocida* является факультативным анаэробом. Они растут на среде с добавлением крови или ее сыворотки, некоторые требуют повышенной концентрации углекислого газа (3-5%). температурный оптимум 37—38 °С, оптимальный pH 7,2—7,4.

В МПБ вызывают равномерное помутнение среды и образование на дне пробирки слизистого осадка, поднимающегося при встряхивании в виде характерной косички. Бактерии штаммов, образующих на плотной питательной среде слизистые колонии (М-штаммы) растут более интенсивно и дают более выраженный слизистый осадок. R-формы образуют хлопьевидный или зернистый осадок.

На плотной питательной среде колонии могут быть в S-форме, R-форме и M-форме. Колонии в S-форме мелкие, выпуклые, прозрачные, круглые, голубоватые, со временем вырастают в агар и становятся серого цвета. R-форма колоний – шероховатая, непрозрачная. M-форма колоний большие, слизистые, с непрозрачным центром. На скошенном агаре рост в виде серо-белого налета, в лучах падающего сбоку света обнаруживается радужное синее или фиолетовое свечение.

Биохимические свойства. Пастереллы ферментируют с образованием кислоты без газа многие сахара: глюкозу, сахарозу, фруктозу, галактозу, маннит, сорбит, не ферментируют лактозу, дульцит, аденин. Образуют индол, не разжижают желатин, гемолиза на кровяном агаре не вызывают, проба на каталазу положительная. Протеолитическими свойствами не обладают.

Антигенная структура. *P. multocida* имеет O-соматический и K-капсульный антигены. На основании полисахаридного капсульного антигена пастереллы разделены

на четыре серологических типа: А, В, D и Е. *P. multocida* серотипа А преимущественно поражает птиц, реже крупный рогатый скот и свиней. Пастерелла серотипа В вызывает острое заболевание домашних и диких животных, протекающее в виде геморрагической септицемии (в Европе), а серотип Е — такую же болезнь в Африке; серотип D встречается у всех видов животных.

Факторы патогенности включают: капсулу, эндотоксин, адгезины, гемагглютинины, протеазы, сидерофоры, коллагеназу. Капсула предотвращает фагоцитоз и убивает макрофаги, эндотоксин является пирогенным. Адгезины способствуют прикреплению микроорганизмов, гемагглютинины склеивают эритроциты. Протеазы разрушают белки, коллагеназа разрушает коллагеновые волокна, а сидерофоры забирают железо из организма хозяина.

Постинфекционный иммунитет. У переболевших животных образуется нестерильный иммунитет, а после вакцинации животные, особенно птицы, могут оставаться бактерионосителями.

Для активной иммунизации применяют эмульгированные вакцины отдельно для крупного рогатого скота, буйволов и свиней; преципитированную вакцину для овец и свиней; полужидкую для крупного рогатого скота и буйволов; ассоциированную вакцину против пастереллеза, сальмонеллеза и диплококковой септицемии свиней. Для активной иммунизации птиц применяют инактивированные вакцины: эмульгированная для кур и уток и эмульсинвакцина для кур, индеек, уток и гусей, а также живые ослабленные вакцины для домашней птицы всех видов.

Лабораторная диагностика. В ветеринарную лабораторию направляют свежий патологический материал (кровь, сердце, печень, селезенку, легкие, трубчатую кость, головной мозг) от нескольких трупов нелеченых животных или материал от животных не ранее 7—10 дней после лечения. Из материала делают мазки — отпечатки с окрашиванием по Граму и по Романовскому-Гимза, проводят посевы с питательные среды, выделяют чистую культуру и изучают ее биохимическую активность, ставят биопробу на белых мышах, кроликах, голубях, цыплятах.

Белых мышей или кроликов заражают культурой пастерелл, выделенной от крупного рогатого скота, свиней, овец, птиц (голубей, кур, уток). Этих животных заражают подкожно, вводя 0,2—0,5 мл суточной культуры пастерелл; голубей и 90—120-дневных цыплят заражают бульонной культурой в дозе 0,5 мл внутримышечно. Кроликов перед заражением исследуют на пастереллоносительство. С этой целью в течение трех дней до заражения им закапывают в носовые отверстия по две капли 0,5 %-ного водного раствора бриллиантовой зелени. Появление гнойного истечения свидетельствует о пастереллоносительстве. Этих кроликов не используют в опыте. Для биопробы применяют также кровь или суспензию из паренхиматозных органов от павших животных. Через 24—48 ч после заражения культурой или исследуемым материалом подопытные животные погибают.

17.2. Иерсинии — возбудители псевдотуберкулеза (*Y. pseudotuberculosis*) и кишечного иерсиниоза (*Y. enterocolitica*)

Род иерсиний содержит 7 видов, включая возбудителя чумы, возбудители псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза, патогенных для животных и человека. Чума в основном является заболеванием грызунов и верблюдов, от которых могут

заражаться люди. При этом часты смертельные исходы. Болезнь контагиозна, и может передаваться от человека к человеку.

Псевдотуберкулез и иерсиниоз представляют собой острые бактериальные инфекции из группы алиментарных сапронозов, которыми болеют и животные и человек. Они характеризуются общей интоксикацией, развитием гастроэнтеритов, полиморфизмом клинических проявлений, тенденцией к генерализации процесса с поражением различных органов и систем, рецидивирующим и затяжным течением.

Псевдотуберкулез, или родентиоз, — инфекционная болезнь, характеризующаяся циклическим течением, интоксикацией, узелковыми поражениями внутренних органов (легкие, печень, селезенка, почки, лимфатические узлы) и общей аллергической реакцией. Этот вид иерсиний поражает грызунов, морских свинок, кошек, индюшек, вызывает аборт у коз и крупного рогатого скота, семенников у баранов, язвенный тофоколит у свиней. Штаммы *Y. pseudotuberculosis* выделены от 175 видов млекопитающих, 124 видов птиц, 7 видов рыб. Резервуаром инфекции служат скворцы, грачи и другие птицы. Кошки и собаки инфицируются при поедании птиц, а свиньи — при поедании инфицированных фекалий и трупов птиц.

При иерсиниозе болезнь развивается как кишечная форма инфекции с илеитом, энтеритом, мезентериальным лимфаденитом. Микроб поражает кроликов, зайцев, собак, лошадей, норок и других пушных зверей, птиц, диких и домашних жвачных.

Резервуаром возбудителя для человека кроме больных сельскохозяйственных животных служат объекты окружающей среды: вода почва, растения, а также пищевые продукты, особенно молочные. Большую роль играют синантропные грызуны, экскременты которых содержат иерсинии и, попадая на овощи в период хранения, их обсеменяют и размножаются. Зараженные грызуны, животные и люди выделяют возбудителя с испражнениями и мочой, загрязняя воду, растения и другие объекты внешней среды, а через них заражается и человек. Таким образом, пищевой путь в передаче возбудителей псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза является ведущим: заражение происходит в результате употребления в пищу сырых или недостаточно термически обработанных продуктов (мяса, мясных продуктов, молока, овощей, фруктов, зелени). Оба вида возбудителя способны размножаться не только на растениях, но и внутри них (салата, гороха, овса и т. п.).

В ходе эволюции у иерсиний закрепилась необходимость существования в двух средах обитания — внешней (сапрофитическая фаза) и в организме теплокровных животных и человека (паразитическая фаза). Для осуществления паразитической фазы иерсиний должны проникнуть в организм теплокровного животного. Заражение возбудителем псевдотуберкулеза чаще всего происходит при употреблении в пищу инфицированных иерсиниями продуктов, хранившихся при пониженной температуре (4—12°C) в холодильниках и овощехранилищах. В этих условиях в силу своей психрофильности бактерии могут размножаться и накапливаться в пищевых субстратах.

Морфологические свойства. Микроорганизмы обоих видов сходны между собой. Они полиморфны, их размеры зависят от температуры выращивания. При температуре 22-25°C они имеют вид палочек, а при 37 °C — кокковидные. Иерсинии грамотрицательные, не образуют спор, имеют часто овоидную форму. Клетки в старых культурах окрашиваются неравномерно. Бактерии псевдотуберкулеза, взятые с влажного агара, могут иметь биполярную окраску, образуют капсулу, но с различной степенью выраженности. Оба вида бактерий обладают, подвижностью, обусловленной

наличием перитрихиальных жгутиков. Подвижность выявляется посевом в столбик полужидкого агара уколом, но только при 18-20 °С, при 37 °С она отсутствует.

Культуральные свойства. Микроорганизмы факультативные анаэробы. Иерсинии нетребовательны к питательным средам, хорошо растут на обычных универсальных средах, способны активно размножаться в почве и воде. Оптимальная для роста температура 22-25 °С, верхняя и нижняя температурные границы роста составляют 43 °С и 0—2 °С соответственно, диапазон рН 6,6—7,8. В жидкой питательной среде отмечается равномерное помутнение

При оптимальной температуре иерсинии *псевдотуберкулеза* через 18-20 часов вырастают в виде колоний диаметром 0,1-0,2 мм, гладких, выпуклых, полупрозрачных с ровным краем. Часть колоний имеет бухтообразный край и исчерченную поверхность. При культивировании при 37 °С колонии имеют неровный утонченный край, выпуклый, бугристый или исчерченный центр (RS-форма и R-форма).

У возбудителей *иерсиниоза* колонии более гладкие с бухтообразным краем и очерченным центром.

На среде Эндо через сутки колонии имеют диаметр 0,1—0,2 мм, круглые, выпуклые, блестящие, с ровными краями, бесцветны (не ферментируют лактозу), через несколько суток размер колоний увеличивается до 0,5—3 мм. Колонии возбудителя *псевдотуберкулеза*, находящиеся в R-форме, почти, не отличаются от колоний *Y.pestis* (пигментированный центр и фестончатый «кружевной» край), но не имеют стадии «битого стекла».

Дифференциально-диагностическими средами является среда СБТС, И-агар, среда Серова. На среде СБТС *псевдотуберкулезный* микроб образует через 48 часов мелкие (1-2 мм) голубовато-зеленые колонии с фестончатыми краями, выпуклые с приподнятым центром, суховатые матовые. Возбудитель *иерсиниоза* образует более крупные колонии (2-4 мм) выпуклые, сухие с матовым налетом, голубого цвета. При взятии петлей колонии сдвигаются по агару. На И-агаре колонии похожи на глаз быка – бесцветные с красным центром.

Биохимические свойства. Оба вида обладают каталазой, но оксидазоотрицательны. Они разлагают глюкозу, маннит до кислоты. Дают положительную реакцию с метиловым красным, разлагают мочевины. В дополнении к этому *Y. pseudotuberculosis* разлагает эскулин, салицин и рамнозу, с возбудитель *иерсиниоза* –разлагает сахарозу, сорбит, дает положительную пробу Фогеса-Проскауэра при 22-25 °С, иногда образует индол.

Антигенная структура. *Y. pseudotuberculosis* обладает жгутиковым Н – антигеном, двумя соматическими О –антигенами - S и R , а также антигенами вирулентности -V и W в наружной мембране. По S –антигену выделено 8 сероваров I-VIII. Большинство сероваров, выделенных от людей, животных и объектов внешней среды принадлежит к серовару I. У возбудителей *иерсиниоза* имеются те же антигены, среди людей и животных особенно часто встречаются O3- серовары.

Факторы патогенности. Патогенность иерсиний обоих видов, как и возбудителя чумы, определяются не только хромосомными, но и плазмидными генами. У них обнаружены плазмиды, очень сходные с плазмидами *Y. pestis*, которые кодируют синтез антигенов V—W и наружных белков (Yop), таких же, как у *Y. pestis*, и других факторов вирулентности. Они имеют общий с *Y. pestis* кластер генов, связанных с системой транспорта железа. Установлено, что *Y. pseudotuberculosis* синтезирует термостабильный токсин, вызывающий гибель морских свинок при внутрибрюшинном

заражении Важную роль в патогенезе псевдотуберкулеза играет способность возбудителя к адгезии и колонизации слизистой кишечника. Иерсинии являются факультативными внутриклеточными паразитами, которые поселяются в макрофагах. За счет V и W антигенов и белков наружной мембраны бактерии противостоят фагоцитозу и разрушают фагоциты. Вирулентность иерсиний также связана со способностью утилизировать железо за счет сидерофоров, конкурируя при этом с макроорганизмом за этот элемент.

Постинфекционный иммунитет. В крови у животных обнаруживают специфические антитела. При легком течении титры антител невысокие, а при септической форме – высокие. Антитела выявляют в РА, РПГА, РСК, проводят иммуноферментный анализ. Профилактические препараты не разработаны.

Лабораторная диагностика. От живых животных исследуют кровь и мочу, от забитых – внутренние органы, мезентериальные лимфатические узлы. Схема бактериологического исследования включает вначале обогащение исследуемого материала при низкой температуре, использование дифференциально-диагностических сред для выделения и идентификации культур, затем определение вида, биовара, серовара и факторов патогенности. Обогащение проводят при посеве патологического материала от животных на жидкие (1% забуференная пептонная вода) и дифференциально-диагностические плотные среды. Посевы выдерживают в холодильнике до 10 суток с периодическим высевом из жидких сред на среду СБТС.

17.3 Возбудители кампилобактериоза

Род *Campylobacter* содержит 4 вида - *C. fetus* (подвиды *C. fetus venerealis*, *C. fetus fetus*); *C. jejuni*; *C. sputorum* (подвиды *C. sputorum sputorum*, *C. sputorum bubulus*, *C. sputorum mucosalis*); *C. coli*, *C. upsaliensis*.

Кампилобактериоз, вызываемый *C. fetus* (подвиды *C. fetus venerealis*, *C. fetus fetus*)-проявляется у млекопитающих в виде абортов, временного бесплодия, задержания последа, вагинитов, метритов, рождения нежизнеспособного молодняка; у кур - снижения прироста массы бройлеров, яйценоскости кур-несушек и падежа цыплят.

Кампилобактериоз, вызываемый *C. jejuni* характеризуется у человека и животных, энтероколитом и профузной диареей. В тяжелых случаях оно осложняется воспалением толстого кишечника. Резервуаром возбудителя для человека могут быть сельскохозяйственные животные (коровы, свиньи, овцы, лошади и цыплята). домашние животные (собаки, кошки), а также и другие животные и птицы, включая дикие и зоопарковые. Однако, основным резервуаром является птица, особенно дикая (чайки, вороны, голуби, грачи, гуси и другая перелетная водоплавающая птица). *C. jejuni* рассматривается как нормальный комменсал кишечника птиц. Пищевой путь в передаче этого вида кампилобактериоза является ведущим: заражение происходит в результате употребления в пищу сырых или недостаточно термически обработанных продуктов (мяса, мясных продуктов, молока), инфицированных кампилобактерами.

У животных чаще всего отмечается скрытое носительство.

Морфологические свойства. Микроаэрофильные микроорганизмы вибрионной формы изогнутые, грамтрицательные, неспорообразующие подвижные микроорганизмы. Могут иметь форму запятой или S-образную форму. Размеры 0,5–5 мкм. Особенностью морфологии кампилобактеров является полиморфизм, в частности, способность образовывать кокковидные формы. Спор и капсул не образуют, подвижны.

Культуральные свойства. Кампилобактеры – микроаэрофилы, растут только при пониженной концентрации кислорода; лучше всего – в атмосфере, состоящей из смеси 80 % азота и 10 % CO₂. Оптимальная температура 42 °С. Для изоляции возбудителя используют богатые питательные среды: агар для бруцелл с добавлением 5 % крови барана или эритроцит-агар. Допустимо понизить содержание кислорода в емкости с помощью зажженной свечи или специальных пакетов с химическими веществами. Выращивать посеы надо 48–72 часов. При исследовании фекалий, пищевых продуктов и других контаминированных посторонней флорой объектов используют селективные добавки, которые ингибируют эту флору, не задерживая роста кампилобактеров

Факторы патогенности. Основной фактор патогенности – термостабильный эндотоксин.

Лабораторная диагностика при кампилобактериозе, вызываемом *S. fetus*

1. Материал для исследования :

абортированный плод с оболочками или голова, желудок, печень, легкие плода, часть плаценты;

от коров - слизь из шейки матки или цервикально-вагинальной области;

от быков - препуциальная слизь, сперма, секрет придаточных половых желез;

от убитых с диагностической целью животных - матка, яичники, влагалище, лимфоузлы тазовой полости.

2. Микроскопия.

Красят разведенным 1:5 карболовым фуксином Циля 1-2 мин. Микрокартина: полиморфные, тонкие, изогнутые палочки в виде запятой, летящей чайки, буквы V, спирали с одним или несколькими завитками, длиной 0,5-8 и толщиной 0,2-0,8 мкм. с. грамотрицательны;

3. Культивирование. Посев на питательные среды: полужидкий 0,15-0,2 %-ный мясо-печеночный пептонный агар (ПЖА), 2-3 %-ный мясо-печеночный пептонный агар (МППА), сафраниножелезеновобиоциновая среда (СЖН), агар Мартена и среда Китта-Тароцци без масла. Особенности выделения возбудителя: микроаэрофилы (в атмосфере 10-15% CO₂) или анаэробы, оптимальная температура 37-38 С, срок культивирования до 10 дней. Культуральные свойства: на ПЖА через рост в пробирке около самой поверхности среды в виде серовато-голубоватого диска толщиной от 1 до 4 мм, на плотной среде - нежный мелкоросинчатый налет или отдельные голубоватые мельчайшие колонии, на СЖН при росте чистой культуры розовый цвет среды не изменяется, при смешанном росте или размножении только других видов микробов среда становится ярко-желтой. с. биохимические свойства: не ферментируют углеводы и мочевины, дезаминируют глутаминовую и аспарагиновую кислоты, оксидазоположительны, индол не выделяют. Образуют сероводород, за исключением подвида *S. fetus venerealis*. Желатин не разжижают, молоко не свертывают. Реакции с метиловым красным и Фогеса - Проскауэра отрицательны. Подвиды *S. fetus* синтезируют каталазу и не редуцируют нитраты. 4.

Биопроба. Заражают подкожно, внутрибрюшинно, интравагинально или орально двух беременных морских свинок или четырех небеременных белых мышей. У морских свинок происходят аборт.

Устойчивость.

В сене, подстилке, навозе, почве, воде кампилобактеры остаются жизнеспособными при температуре 18-27 °С до 20 дней, при 6 °С - до 1 мес; в гниющем

материале разрушаются быстро. В инфицированных тканях матки и плодов при температуре минус 20 °С сохраняются 5-8 мес. Высушивание их убивает через 3 ч, при 55 °С гибнут в течение 10 мин. Растворы едких щелочей, хлорной извести, свежегашеной извести в концентрациях, применяемых для дезинфекции, убивают их за 5-10 мин.

Иммунитет.

Переболевшие кампилобактериозом животные приобретают прочный иммунитет.

Серологическая диагностика

У крупного рогатого скота при помощи реакции агглютинации с вагинальной слизью (РАВС). Компоненты: 1) влагиалищная слизь в разведении от 1:50 до 1:400; 2) кампилобактериозный антиген; о у овец при помощи РА с сывороткой крови. Компоненты: 1) сыворотка крови в разведении от 1:100 до 1:400; 2) кампилобактериозный антиген.

Биопрепараты для специфической профилактики:

Эмульсинвакцина против кампилобактериоза овец. Иммунитет у привитых животных наступает через 10-15 дней после вакцинации и сохраняется не менее 12 мес. Е. Биопрепараты для специфической терапии: не разработаны.

Вопросы для самоконтроля

1. Назовите вид микроорганизма, вызывающего пастереллез у животных.
2. Какие клинические признаки возникают у различных животных, больных пастереллезом?
3. Охарактеризуйте морфологические и культуральные признаки пастерелл.
4. Как следует проводить лабораторную диагностику пастереллеза у животных?
5. Какие признаки позволяют отличать пастереллы от иерсиний?
6. Опишите клинические признаки псевдотуберкулеза у животных.
7. Опишите клинические признаки иерсиниоза у животных.
8. Назовите возбудителей псевдотуберкулеза и иерсиниоза и опишите их морфологические признаки.
9. Какие методы лабораторной диагностики позволяют отличить возбудитель иерсиниоза и псевдотуберкулеза?
10. Какие питательные среды являются дифференциально-диагностическими для иерсиний?
11. Какие антигены известны у иерсиний?
12. Как следует проводить лабораторную диагностику псевдотуберкулеза и иерсиниоза?
13. Какие виды кампилобактеров вы знаете?
14. Как следует проводить лабораторную диагностику кампилобактериоза?

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. Госманов, Р.Г. Микробиология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.К. Галиуллин, А.Х. Волков, А.И. Ибрагимова. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2017. — 496 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/91076>.
2. Госманов, Р.Г. Микробиология и иммунология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.И. Ибрагимова, А.К. Галиуллин. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2013. — 240 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/12976>.

3. Колычев, Н.М. Ветеринарная микробиология и микология. [Электронный ресурс] / Н.М. Колычев, Р.Г. Госманов. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2014. — 624 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/39147>

Дополнительная

1. Ветеринарная микробиология и иммунология : учебник / Г. В. Дунаев, Н. М. Колычев, Н. А. Радчук ; ред. Н. А. Радчук. - М. : Агропромиздат, 1991. - 383 с. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 5-10-001805-4;

Лекция 18

Возбудители бруцеллеза. Виды бруцелл. Морфологические, культуральные, биохимические свойства возбудителей. Серодиагностика. Профилактика

18.1 Возбудители бруцеллеза, виды бруцелл, морфологические и биологические свойства

Бруцеллез — зоонозное хронически протекающее заболевание, которое поражает животных разных видов (жвачных, свиней, грызунов, собачьих, морских млекопитающих) и людей. Оно вызывается бактериями рода *Brucella*.

Человек заражается бруцеллезом главным образом от домашних животных (овцы, козы, коровы, свиньи, зайцы, фазаны, гойбы, воробы). Северные олени — главный резервуар возбудителя в природе. Болезнь у человека впервые была описана на острове Мальта, поэтому первоначальное ее название — мальтийская лихорадка. В честь исследователя Брюса, выделившего микроорганизм из селезенки умершего человека, он получил название бруцелла, а заболевание — бруцеллез. Бруцеллелы могут служить орудием биотерроризма, поэтому бруцеллез относится к особо опасным инфекциям. В настоящее время в России обстановка по бруцеллезу считается неблагополучной. В Саратовской области заболеваемость бруцеллезом людей в 2,7 раза выше, чем в целом по стране. Больные бруцеллезом люди часто становятся инвалидами из-за поражения органов движения.

Имеется 6 классических видов бруцелл: *Brucella melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. ovis*, *B. canis*, *B. neotomae*. Каждый вид бруцелл имеет своего хозяина. *B. melitensis* вызывает аборт, маститы, орхиты, хромоту у овец. *B. abortus* поражает крупный рогатый скот, вызывая у них аборт, орхиты, эпидидимиты. У овец возбудителем служит *B. ovis*, которая вызывает орхиты, эпидидимиты, бесплодие, нефриты. Свиней поражает *B. suis*, результатом заражения являются аборт, артриты, бесплодие, спондилиты, абсцессы. У собак, зараженных *B. canis*, поражения очень значительные: кроме абортов, эпидидимитов, бесплодия, бывают спондилиты, увеиты, дерматиты, менингиты, гломерулонефриты, остеомиелиты. Последний вид бруцелл — *B. neotomae* непатогенен для животных, за исключением лесных крыс, и человека.

Морфологические свойства. Все виды бруцелл обладают сходными морфологическими, тинкториальными и культуральными свойствами. Они представляют собой грамотрицательные мелкие кокковидные клетки диаметром 0,5—0,7 мкм и длиной 0,6-1,5 мкм, в мазке располагаются беспорядочно, иногда парами, не имеют жгутиков, не образуют спор, могут образовывать нежную капсулу. Для дифференцировки бруцелл от других видов микроорганизмов, могущих содержаться в патологическом материале, применяют модифицированную методику Циля-Нильсена, поскольку бруцеллы устойчивы к слабым растворам кислот. При жтой окраске они красного цвета, тогда как другие некимлотоустойчивые микроорганизмы — синего цвета. Содержание Г + Ц в ДНК составляет 56—58 мол %.

Культуральные свойства. Бруцеллы являются аэробами или микроаэрофилами, в анаэробных условиях не растут. Температурный оптимум для роста 36—37 °С; рН 7,0—7,2; Микроорганизмы требовательны к питательным средам, хорошо растут на средах с добавлением сыворотки или крови. Для роста бруцелл необходимы тиамин, биотин, ниацин. Рекомендуемые среды: питательный агар с добавлением сыворотки (5 %) и глюкозы; агар, приготовленный на картофельном настое, с добавлением 5 % сыворотки; кровяной агар; мясо-пептонный бульон. Особенностью *B. abortus* является

потребность ее в повышенном содержании CO₂ (5— 10 %) в атмосфере роста. Очень характерен для бруцелл медленный рост, особенно в первых генерациях: при высеве от человека и животных рост иногда появляется через 2—4 недели, поэтому посевы не уничтожают до 30 суток.

Колонии бруцелл становятся видимыми через 3-5 суток после начала инкубирования. Они бесцветны, выпуклые, круглые — S-формы, или шероховатые — R-формы, нежные и прозрачные вначале, с возрастом становятся крупнее, мутнеют., принимают коричневый цвет. Колонии *B. canis*, *B. ovis* и 5-го биотипа *B. suis* всегда имеют R-форму. Рост бруцелл в бульонных средах сопровождается равномерным помутнением., образованием кольца, небольшого осадка.

Биохимические свойства. Бруцеллы ферментируют глюкозу и арабинозу с образованием кислоты без газа, не образуют индола, восстанавливают нитраты в нитриты. Образование сероводорода наиболее сильно выражено у *B. suis*.

Антигенная структура. В общей сложности у бруцелл с помощью иммуноэлектрофореза экстрактов, приготовленных из разрушенных ультразвуком клеток, обнаружено 10—14 антигенных фракций. Бруцеллы имеют общий родоспецифический антиген, различные другие соматические антигены, в том числе видоспецифические M (преобладает у *B. melitensis*), A (преобладает у *B. abortus*) и R (у шероховатых форм). Антигены M и A обнаруживаются также и у других видов (биоваров) бруцелл, но в разных соотношениях, что необходимо учитывать при их идентификации. Обнаружены антигены, общие с *Francisella tularensis*, *Bordetella bronchiseptica* и *Y. enterocolitica* (серотип 09). В связи с тем, что некоторые признаки у бруцелл варьируют, вид *B. melitensis* подразделяют на 3 биовара, вид *B. abortus* — на 9 и *B. suis* — на 5 биоваров.

Факторы патогенности. Бруцеллы не образуют экзотоксина. Их патогенность обусловлена эндотоксином и способностью подавлять фагоцитоз (бруцеллы являются факультативными внутриклеточными паразитами), предотвращать «окислительный взрыв». Патогенность бруцелл связана также с гиалуронидазой и другими ферментами. Существенно важным является то, что бруцеллы обладают сильнейшим аллергенным свойством, которое во многом определяет патогенез и клинику бруцеллеза.

Постинфекционный иммунитет клеточный, а антитела, имеющиеся в сыворотке крови имеют лишь диагностическое значение. Иммунитет длительный, прочный, но возможны повторные заболевания. Иммунитет перекрестный (против всех видов бруцелл) и обусловлен T-лимфоцитами и макрофагами. У иммунных людей и животных фагоцитоз носит завершённый характер. Роль антител в иммунитете заключается в стимуляции фагоцитарной активности. Положительная аллергическая реакция свидетельствует не только о сенсибилизации организма, но и о наличии иммунитета. Прорыв иммунитета может произойти при инфицировании большими дозами возбудителя или при его высокой вирулентности.

Профилактика. Имеются живые авирулентные вакцины (штамм 19, вакцина 82) и адьювантная вакцина.

18.2 Лабораторная диагностика

Лабораторная диагностика. Для диагностики бруцеллеза используют бактериоскопию, бактериологический, биологический, серологический и аллергический методы.

В лабораторию направляют абортрованный плод с плодными оболочками или желудок плода с содержимым, кусочки печени, селезенки, содержимое гигром, абсцессов, молоко; от убитых животных — лимфоузлы, кусочки паренхиматозных органов, костный мозг, матку, яичники, семенники, вымя; от баранов — семенники с придатками.

На серологическое исследование направляют кровь или сыворотку крови и молоко. При бактериоскопии мазки окрашивают по Граму и Козловскому.

Посевы из патологического материала производят на плотные и жидкие питательные среды. С целью подавления посторонней микрофлоры в среды можно добавлять генцианвиолет (1:200 000) или кристаллвиолет (1:100 000). При исследовании материала от крупного рогатого скота одну часть посевов инкубируют в атмосфере с содержанием 10—15 % CO₂. Выделение культур *B. ovis* проводят на плотных или полужидких печеночно-сывороточном или печеночно-аминопептидном агаре в атмосфере с 10—15 % CO₂. Посевы помещают при температуре 37—38 °С и инкубируют 30 дней.

Культуры бактерий, обладающие типичными морфологическими, тинкториальными и культуральными свойствами, дающие положительную РА с позитивной сывороткой, относят к бруцеллам.

Виды бруцелл дифференцируют по способности роста в отсутствие повышенной концентрации CO₂, выделению сероводорода, чувствительности к фагу Тб, бактериостатическому действию анилиновых красителей и агглютинации моноспецифическими сыворотками.

В качестве биопробных животных используют морских свинок (не менее двух), сыворотка которых в разведении 1:5 отрицательно реагирует в РА с бруцеллезным антигеном. На 15, 25 и 40-й день после заражения берут кровь и сыворотку, исследуют в пробирочной РА в титрах от 1:10 до 1:80. Результат на бруцеллез считается положительным, если сыворотка реагирует в титре 1:10 и выше. Для выделения культуры свинок убивают и делают посевы из лимфоузлов, селезенки, печени и костного мозга.

Для диагностики бруцеллеза животных применяют реакцию агглютинации в пробирках (РА), реакцию связывания комплемента (РСК), реакцию длительногосвязывания комплемента (РДСК), пластинчатую реакцию агглютинации с роз бенгал антигеном (роз бенгал проба, РБП) и кольцевую реакцию с молоком (КР).

РСК — специфический и высокочувствительный метод диагностики бруцеллеза животных. Ее показания более постоянны и длительней сохраняются: комплементсвязывающие антитела появляются позже, чем агглютинины. Эта реакция позволяет выявить большее количество больных в стадах с давней инфекцией. РСК применяют при диагностике бруцеллеза у вышеперечисленных животных, а также свиней. РДСК более чувствительный тест, чем РСК. При инфекционном эпидидимите баранов используют только РДСК с овисным антигеном.

РБП используют для исследования сывороток крови крупного рогатого скота, овец, коз, лошадей, свиней, буйволов, верблюдов и оленей. Реакцию ставят при температуре 18—30 °С с бруцеллезным антигеном, окрашенным бенгальским розовым, на пластинках с лунками. При положительной реакции в течение 4 мин появляются мелкие или крупные хлопья агглютината розового цвета.

КР ставят с цельным свежим или консервированным формалином молоком коров и антигеном — взвесью убитых бруцелл, окрашенных в синий или красный цвет. При наличии в молоке специфических антител происходит агрегация антигена,

образовавшийся комплекс адсорбируется сливками молока и поднимается с ними вверх, образуя четкое, окрашенное кольцо.

Для выявления бруцелл непосредственно в патологическом материале, а также в объектах внешней среды предложен прямой метод иммунофлюоресценции (РИФ), непрямой же метод позволяет обнаружить антитела в сыворотке крови больных, переболевших или привитых животных.

Аллергический метод. Для аллергической диагностики бруцеллеза овец, коз и свиней используют бруцеллин ВИЭВ, изготавливаемый из неагглютиногенного и авирулентного штамма. В. abortus В-1. У овец и коз применяют пальцебральную пробу, свиньям препарат вводят внутривожно с наружной стороны ушной раковины. У животных, больных бруцеллезом, на месте введения бруцеллина развивается воспалительная реакция

Вопросы для самоконтроля

1. Кем и когда были выделены бруцеллы?
2. Почему бруцеллез относится к особо опасным заболеваниям?
3. Опишите морфологические признаки бруцелл и назовите виды бруцелл?
4. Какие животные поражаются бруцеллезом?
5. Назовите виды бруцелл, поражающих определенные виды животных.
6. Как следует культивировать бруцеллы и в каких лабораториях?
7. Какими факторами патогенности обладают бруцеллы?
8. Какие пути выделения бруцелл из организма животных вы знаете? Как может заразиться человек бруцеллезом?
9. Охарактеризуйте антигенный состав бруцелл.
10. Какие секреты, органы и ткани следует направлять для проведения лабораторной диагностики бруцеллеза?
11. Какие методы лабораторной диагностики бруцеллеза вы знаете?
12. Опишите методы постановки серологических реакций при бруцеллезе.
13. Какие аллергические методы установления диагноза бруцеллеза вы знаете?

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. Госманов, Р.Г. Микробиология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.К. Галиуллин, А.Х. Волков, А.И. Ибрагимова. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2017. — 496 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/91076>.
2. Госманов, Р.Г. Микробиология и иммунология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.И. Ибрагимова, А.К. Галиуллин. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2013. — 240 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/12976>.
3. Колычев, Н.М. Ветеринарная микробиология и микология. [Электронный ресурс] / Н.М. Колычев, Р.Г. Госманов. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2014. — 624 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/39147>

Дополнительная

1. Ветеринарная микробиология и иммунология : учебник / Г. В. Дунаев, Н. М. Колычев, Н. А. Радчук ; ред. Н. А. Радчук. - М. : Агропромиздат, 1991. - 383 с. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 5-10-001805-4;

Лекция 19

Возбудители микозов. Возбудители кожных, подкожных и системных микозов. Оппортунистические микозы. Морфологические, культуральные, биохимические свойства возбудителей. Диагностика. Профилактика. Микотоксикозы

В 1854 году О.Вирхов впервые назвал грибковые болезни людей и животных микозами. Микроскопические грибы, вызывающие заболевания у животных, подразделяют на оппортунистические и патогенные. Оппортунистические грибы вызывают заболевание на фоне предрасполагающих факторов: травма, иммунодепрессивные состояния, нерациональная антибиотикотерапия. Патогенные грибы вызывают болезнь без какого-либо предрасполагающего фактора.

Ферментативная активность патогенных грибов очень разнообразна, интенсивность ее широко варьирует как у различных грибов, так и у одного и того же, но в разных условиях существования. У одних грибов более выражена протеолитическая активность, у других — сахаролитическая, а у некоторых — липолитическая. Одни грибы обладают обширным рядом ферментов и усваивают самые разнообразные углеводы, другие, наоборот, способны потреблять лишь очень ограниченный набор азотистых веществ и углеводов. Различна и глубина разложения питательных субстратов грибами: одни из них разлагают белки лишь до аминокислот, другие — до конечных продуктов: аммиака и сероводорода. Потребление углеводов одними грибами сопровождается только образованием органических кислот, тогда как другие окисляют их до воды и углекислоты.

Витамины, некоторые аминокислоты и микроэлементы для различных видов патогенных грибов являются важными факторами роста.

На жидких питательных средах многие грибы растут в виде войлоковидного осадка, вначале на дне, а затем в виде пристеночного кольца или сплошной пленки. По характеру роста на плотных питательных средах колонии грибов подразделяются на несколько типов:

- 1) кожистые, гладкие, плотной консистенции, с трудом отделяемые от поверхности среды;
- 2) пушистые, рыхлые, ватообразной консистенции, с большим трудом снимаются петлей;
- 3) бархатисто-ворсистые колонии, покрытые очень коротким густым мицелием, напоминающим бархат;
- 4) хрупкие, пленчатые, по консистенции напоминающие ломкий картон, с коротким газоном воздушного мицелия, густомучнистые при спорообразовании;
- 5) гипсовидно-мучнистые поверхностные колонии порошковидной консистенции; мучнистость сплошь или звездчатыми очагами покрывает колонию и легко отделяется от поверхности культуры;
- 6) мелкозернистые или бугристые, кожистой консистенции, тесно спаянные со средой;
- 7) крупнобугристые, строчковидные, очень хрупкой консистенции, легко отделяемые от субстрата;
- 8) блестящие, сальные или матовые, сливкообразной консистенции.

Многим патогенным грибам свойственны различные оттенки окраски воздушного мицелия, более ярко выраженные на высоте споруляции. Окраска бывает белой,

желтой, коричневой, черной, синей, зеленой, красной, малиновой и других цветов. Одни из пигментов растворимы в воде, другие — в спирте, ацетоне, дихлорэтане, четыреххлористом углероде. Водорастворимые пигменты окрашивают питательные субстраты. Более четко цвет пигмента выявляется на кислых питательных средах. Субстратный мицелий и обратная сторона колоний могут быть совершенно другой окраски.

Среди продуктов жизнедеятельности и экстрактов из клеток некоторых грибов выявлены вещества, обладающие токсическими свойствами. С ними связано растворение эритроцитов, повреждение эпителия кожи и ее придатков и слизистых, клеток различных органов. Многие грибы обладают гиалуронидазной активностью. Важную патогенетическую роль играют полисахариды некоторых дерматофитов в развитии васкулитов, доказана токсичность некоторых липидов из культур дрожжеподобных грибов.

В зависимости от степени поражения макроорганизма микозы делят на поверхностные, или кожные, подкожные и системные, или глубокие.

Поверхностные микозы поражают кожу и ее производных (волосы, когти). Подкожные микозы поражают кожу, фасции, мышцы, кости. Системные микозы первоначально повреждают место входных ворот — легкие, а затем гематогенно распространяются по всему организму, вызывая общий процесс.

19.1. Глубокие микозы

Возбудителями глубоких микозов служат микроорганизмы, свободно обитающие в почве или на разрушающихся органических субстратах. Эти грибы встречаются только в определенных географических зонах. В этих зонах многие животные и люди инфицированы данными возбудителями. Заболевание протекает тяжело, напоминая хронические бактериальные инфекции, вызванные микобактериями, актиномицетами. Может развиваться острая или хроническая пневмония, при которой в легких образуются нагноения или гранулематозное поражение, каверны. Абсцессы и гранулемы могут быть в любых органах и тканях. Болезнь сопровождается аллергическими проявлениями. Возбудителями глубоких микозов являются *Coccidioides immitis*, *Histoplasma capsulatum* и ряд других.

Кокцидиоидоз.

Возбудителем этого системного микоза является почвенный гриб *Coccidioides immitis*. Инфекция эндемична и встречается в некоторых засушливых районах запада США и Латинской Америки. Поражает лошадей, лам, собак, человека, спорадически — крупный рогатый скот, овец, свиней, кошек и других видов животных.

Морфологические свойства. Гриб относится к классу фикомицетов и обладает диморфизмом. В природной среде и питательных средах имеет форму септированного мицелия, в организме — сферулы. Субстратный мицелий имеет длину от 3 до 7 мкм в диаметре, иногда с ракетовидными вздутиями, размножается хламидоспорами, а воздушный мицелий — артроспорами. Артроспора прямоугольной или бочковидной формы. Она отделяется от воздушного мицелия и, проникая в легкие, превращается в толстостенную крупную круглую сферулу, диаметром 15-60 мкм. Внутри сферулы находятся эндоспоры.

Культуральные свойства. Гриб является аэробом, легко культивируется на среде Сабуро при pH от 2 до 12 при комнатной температуре. Колонии пушистые, белые, ватообразные. С возрастом воздушный мицелий превращается в мучнистый желтовато-бурого цвета.

Биохимические свойства. Кокцидиоидный гриб является аэробом, окисляет многие сахара: моно-, ди- и полисахариды, обладает выраженной протеолитической активностью. Способен разжижать желатин и казеин, свернутую лошадиную сыворотку, пептонизирует и коагулирует молоко. Ферментирует жиры и многие органические кислоты.

Лабораторная диагностика. Материалом для исследования являются гной, мокрота, кровь, ликвор, кусочки ткани из органов, в которых при микроскопии обнаруживают характерные сферулы, легче различимые в неокрашенных препаратах. Всегда четкие, достоверные результаты дает получение чистой культуры при посеве на среды Сабуро, МПА и МПБ с глюкозой. Посевы инкубируют при 27 и 37 °С от 3 недель до 2 месяцев. Работа с культурами требует соблюдения особо строгого режима во избежание внутрилабораторного заражения. Чистая культура хорошо выделяется при заражении белых мышей или самцов морской свинки при развитии у животного прогрессирующих очагов поражения. Серологическая диагностика осуществляется посредством реакции агглютинации, преципитации, РСК, так как через 2—4 недели после заражения появляются антитела классов IgM и IgG. При диссеминации процесса нарастание титра комплементсвязывающих антител является плохим прогностическим признаком. Аллергические кожные пробы ставят с кокцидиоидным аллергеном в разведении 1:1000, при отрицательном результате — 1:100. Результат учитывают через 48 ч. При положительной пробе отмечаются гиперемия, припухлость в месте введения. При диссеминированной форме кожные пробы иногда бывают отрицательными.

Профилактика. Иммунитет у переболевших животных стойкий. Специфической профилактики нет.

19.2. Подкожные микозы

К подкожным микозам относят споротрихоз, эпизоотический лимфангоит, хромобластомикоз. Это почвенные грибы. Болезнь развивается при попадании спор или мицелия в кожную рану.

Эпизоотический лимфангоит.

Возбудителем служит *Histoplasma capsulatum var farciminosum*. Этот гриб может поражать лошадей, ослов, мулов. Заболевание встречается в Северной Африке, Европе, России.

Морфологические свойства. В зависимости от условий окружающей среды может иметь дрожжевую и мицелиальную форму. Мицелиальная форма свойственна природным и лабораторным штаммам, дрожжевая — паразитарная — встречается в организме человека и животных или развивается на соответствующих искусственных средах. В тканях и патологическом материале имеет вид одноядерных клеток округлой или грушевидной формы, размером 2—4 мкм, с почкой, которая развивается на более узком конце клетки и имеет узкое основание. Ядро почти вдвое меньше клетки; имеются также клеточная оболочка и капсула. Характерным для тканевой формы является расположение внутри макрофагов, гигантских клеток и клеток ретикулоэндотелиальной системы; реже клетки гриба лежат свободно.

Культуральные свойства. Мицелиальная форма гриба — аэроб, дрожжевая — факультативный анаэроб и микроаэрофил. Выращивают посевы до 3 нед. На среде Сабуро при комнатной температуре развиваются пушистые колонии от белого до коричневого цвета с темной, иногда складчатой, подкладкой, с некоторым вращением в толщу среды. Мицелий в таких колониях септированный, ветвистый, многоядерный, диаметром до 5 мкм. Часто встречаются хламидоспоры. Макроконидии крупные, круглые или грушевидные, диаметром 10—25 мкм, имеют шиловидные выросты

длиной 1—5 мкм, располагаются на концах воздушных нитей мицелия. Микроконидии обычно гладкостенные, округлые или грушевидные, иногда сигарообразные, размером 2—6 мкм. На жидких средах гриб растет в виде бархатистой беловатой пленки.

Дрожжевая форма гистоплазмы вырастает на кровяных средах с глюкозой при температуре 35—37 °С и рН 7,2—7,6. Колонии мелкие, блестяще-сальные, выпуклые, иногда складчатые, плотной консистенции, прочно связанные со средой, окраска — от беловато-сероватой до коричневатой, иногда с оранжевым оттенком. Клетки гриба овальной формы, размером 1,5—3,5 мкм, размножаются только почкованием; почки образуются на одном или на двух полюсах, иногда аполярно. Может образовываться псевдомицелий: почкующиеся дрожжеподобные клетки располагаются цепочками и нитями.

Биохимические свойства. В мицелиальной форме гидролизует жиры, восстанавливает натраты в нитриты.

Лабораторная диагностика. Материалом для исследования служат отделяемое язв, гной, мокрота, ликвор, кровь, костный мозг, моча. Препараты окрашивают в Граму, Цилю—Нильсену, Романовскому—Гимзе. Внутри цитоплазмы клеток или внеклеточно видны мелкие круглые почкующиеся дрожжеподобные клетки, окруженные светлым ореолом. Лучше делать посевы на среды с антибиотиками. Материал можно также вводить внутрибрюшинно белым мышам, которых через 4 недели забивают и из печени и селезенки выделяют чистую культуру. Вспомогательное значение имеют аллергический метод (кожная проба с гистоплазмином) и серологические реакции.

Профилактика. Иммунитет пожизненный после переболевания. Специфической профилактики нет.

19.3. Дерматомикозы

Дерматомикозы вызываются дерматофитными грибами. Это очень распространенная патология у различных видов животных. По данным М.Г. Манояна с соавторами (2011) распространенность инфекции у собак достигает 20%, у кошек -54%, у крупного рогатого скота -87%, у коз – 31%, кроликов -51%, у пушных зверей – 75%.

В зависимости от возбудителя зоофильные дерматомикозы называются трихофитиями (грибы рода *Trichophyton* и микроспориями (грибы рода *Microsporum*). Трихофития чаще регистрируется у сельскохозяйственных и диких животных, микроспория – у кошек и собак. Возбудители трихофитии и микроспории являются аскомицетами, т.е. имеют половое размножение. В результате него образуется сумко-аска, содержащая аскоспоры. Образование сумки происходит на волосах.

Дерматофиты образуют септированный мицелий со спиралями, ракетовидными вздутиями, артроспорами, хламидоспорами, макроконидиями и микроконидиями.

Возбудители трихофитии

В ветеринарии наиболее частыми возбудителями служат *T. mentagrophytes* (синоним *T. gypseum*), *T. equinum*, *T. verrucosum*.

Морфологические свойства. Трихофитоны отличаются от возбудителей микроспории наличием редких, в небольшом количестве цилиндрических, сидящих на ножках тонкостенных или толстостенных гладких макроконидий. Микроконидии одноклеточные, круглые или грушевидные. Они многочисленны, одиночные или собраны в группы.

Культуральные свойства.

T. gypseum — быстрорастущие грибы. Полиморфны. На сусло-агаре колонии плоские, приподнятые в центре в виде маленького бугорка, с мучнистой поверхностью

белого цвета с переходом в желтоватый, с обратной стороны колонии имеют красную пигментацию.

В культурах мицелий гриба тонкий, разветвленный, с обильными спиральными и кольцевидными окончаниями гиф и многочисленными гроздевидными расположенными, округлыми спорами.

На среде Сабуро колонии правильной округлой формы, мучнистые, как бы посыпанные гипсом. Цвет белый, обратная сторона колоний желтая или коричневая. В центре колоний пуговчатое возвышение.

T. equinum на агаре Сабуро дает колонии в виде нежно-белого, реже кремового пушистого ковра; с обратной стороны они имеют ярко-вишневую окраску. На сусле-агаре колонии белые, бархатистые, плоские, с возрастом появляются радиальные бороздки. Старые колонии мучнистые. По бокам гиф формируются хламидоспоры.

T. verrucosum — медленно растущий гриб. Колонии появляются на сусле-агаре на 20—25-й день. Первичная культура имеет вид белых, тонких и округлых колоний, расплывчатой формы, с паутинообразным краем, складчатостью в центре и бархатисто-пушистой поверхностью. Иногда колонии выпуклые, рыхлые или плоские и распростерты, а также округлые, плоские, белые, пушисто-бархатистые, в диаметре от 5—7 до 10—25 мм, с ровным краем.

Мицелий септированный, прямой, изогнутый, извилистый, гребешковый, диаметром 3—9 мкм, содержащий единичные артроспоры или распадающийся на артроспоры 2,5—6, реже 10—12 мкм в диаметре. Микроконидии округлой, грушевидной, палочкообразной формы, шириной 1,5—2,5 и длиной 5—7 мкм. Макроконидии с обрубленными краями и одной перегородкой, овальной или неправильной формы, размером 3,5 * 15—25 мкм. Наблюдали единичные терминальные и интеркалярные хламидоспоры.

Возбудители микроспории

Род *Microsporum* включает 17 видов. Из которых наибольшее значение в ветеринарии имеют *M. canis*, *M. gypseum*, *M. nanum*.

Морфологические свойства. Представители рода образуют большие, грубые толстостенные многосептированные макроконидии, которые образуются на концах несептированных гифов. Они могут быть веретеновидными или овоидными. Микроконидии могут быть с ножкой или сидячими без нее. По форме они булавовидные. Часто располагаются поодиночке вдоль гиф.

Культуральные свойства.

M. canis — возбудитель микроспороза у собак и кошек. На сусле-агаре на 2—3-й день после посева дает круглые с концентрическими кругами серовато-белые колонии; с возрастом центр колонии становится мучнистым. Обратная сторона колоний желтая.

M. gypseum — возбудитель микроспороза у лошадей, собак, кошек, крыс, мышей. На сусле-агаре дает плоские, с возрастом мучнистые, неправильно-складчатые колонии. Цвет колоний темноватый, светло-коричневый, обратная сторона рыжевато-коричневая.

M. nanum в основном является возбудителем заболевания у свиней. На плотной питательной среде он растет в виде припудренных рыжеватых колоний, обратная сторона у которых красновато-коричневого цвета.

Лабораторная диагностика основывается на клинических признаках, исследовании волос с помощью лампы Вуда, микроскопии волос и культивирования грибов на средах Сабуро, сусле-агаре, глюкозном агаре.

С целью дифференциации грибов рода микроспорум от трихофитона у кошек и собак используют люминесцентный метод. Исследуемый материал рассматривают под ультрафиолетовыми лучами ртутно-кварцевой лампы типа ПРК-2 или ПРК-4 с фильтром Вуда на расстоянии 20 см в затемненной комнате. Пораженные возбудителем микроспории волосы дают яркое зеленоватое свечение, споры трихофитона не светятся.

Профилактика. Для борьбы с трихофитией используют ассоциированную живую вакцину – Вермат, ТФ-130 или ЛТФ-130. Для профилактики микроспории вакцину Ментовак, Макродерм. Существуют и другие вакцины: Вакдерм-F1, Поливак для собак и кошек.

19.4. Оппортунистические микозы

Условно-патогенные грибы относятся к различным родам и видам и обычно являются сапрофитами, обитая во внешней среде, на коже и слизистых оболочках тела животного. Причинами, приводящими к развитию микозов, вызванных условно-патогенными грибами, являются плохие условия содержания животных, скормливание кормов с наличием большого количества плесеней, иммунодефициты, нерациональное лечение антибиотиками с развитием дисбактериозов.

Возбудителями оппортунистических микозов являются представители родов: *Mucor*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Candida*, *Malassesia* и другие. Тело *Mucor*, *Aspergillus*, *Penicillium* представляет собой гифу нитевидной формы, а *Candida* и *Malassesia* округлую форму дрожжей.

Число ядер в грибных клетках различно. У дрожжеподобных форм, к которым относят *Candida* и *Malassesia*, имеется одно ядро, у низших грибов (род *Mucor*) в одной клетке имеется несколько десятков.

Многие грибы растут на минимальных по составу ингредиентов средах, но для роста им необходимы витамины. *Mucor*, *Aspergillus*, *Penicillium* являются сапрофитами и фитопатогенами.

Выделение и идентификацию грибов проводят на жидких и плотных питательных средах: среды Сабуро, сусло-агар, картофельный агар и другие. Среда Сабуро стимулирует процессы пигментообразования у грибов, что позволяет их идентифицировать. Для подавления роста бактерий контаминантов («загрязнителей») патологического материала в среды добавляют антибиотики.

Род *Aspergillus*

Аспергиллы, или леечная плесень, встречаются наиболее часто. Они относятся к плесневым несовершенным грибам дейтеромицетам. Аспергиллы имеют многоклеточный сильно разветвленный мицелий, размножаются вегетативно и бесполом путем с помощью конидий, которые еще называют экзоспорами. Конидиеносцы имеют расширение в виде головки, от которой отходят ответвления - стеригмы. От концов этих стеригм отшнуровываются конидии, окрашенные в различные цвета.

Род аспергилл включает около 200 видов. Самые частые из них *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*. Аспергиллы являются обычными обитателями верхних дыхательных путей здоровых животных, но могут выступать в качестве условно-патогенных микроорганизмов. Аспергиллез у сельскохозяйственных животных проявляется пневмонией, хроническими ринитами, аллергическими реакциями, абортами, поражением желудочно-кишечного тракта, маститами, поражением роговицы. Аспергиллы поражают цыплят, вызывая у них быструю гибель. У взрослых птиц болезнь протекает хронически. У собак поражается слизистая оболочка носа, гифы грибов могут прорасти в синусы и в мозг. Первичными факторами могут быть

вирусные инфекции дыхательных путей, а аспергиллез в этом случае выступает как секундарная (вторичная) инфекция. В тканях аспергиллы вызывают острое воспаление с зонами ишемического некроза.

Споры аспергилл имеют размеры, идеальные для проникновения в альвеолы. Аспергиллы вырабатывают протеолитические ферменты, разрушающие эластические волокна в стенках альвеол (эластазы). Кроме того они вырабатывают фибринолитические и антикоагулянтные ферменты.

Грибы из патологического материала растут легко, обычно в течение 3 дней при 25 °С. Большинство видов аспергилл вначале растут в виде белых «вельветовых» или «хлопковых» колоний, затем с возрастом цвет их изменяется. В зависимости от вида, колонии окрашены в разный цвет.

Aspergillus flavus образуют бархатистые или «припудренные» колонии желтого, желтовато-зеленого цвета, обратная сторона золотистая или красно-коричневая. Конидиеносец гладкий.

У *A. fumigatus* колонии бархатистые, складчатые. В начале своего роста на питательной среде они бывают белого цвета, а затем репродуктивный мицелий становится зеленого цвета, а вегетативный, хорошо просматриваемый на обратной стороне чашки Петри, - желтым, зеленым, иногда красно-коричневым. Обратная сторона белой или бронзовой окраски. Конидиеносец шероховатый. *A. niger* образуют колонии желто-черного цвета, обратная сторона - черно-бурого цвета. Конидиеносец гладкий, длинный, прямой.

Аспергиллы выявляются микроскопическими и культуральными методами исследования. Микроскопировать можно нативный (неокрашенный) и окрашенный материал. Неокрашенный материал обрабатывают 10-30% раствором КОН, затем микроскопируют, изготовив препарат по методу «раздавленная капля». Можно контрастировать препарат водным раствором метиленового синего. Фиксированные мазки окрашивают по Граму, метиленовым синим, по Романовскому-Гимза. При наличии аспергилл в мазках обнаруживают гиалиновые гифы, диаметром 3-6 мкм с дихотомическим делением и образованием двух равных ветвей, отходящих под углом 45 или 90°.

Род *Candida*

Представители этого рода, включающего более 200 видов, относятся к диморфным грибам дейтеромицетам. Кандиды в норме встречаются на кожных покровах, в желудочно-кишечном тракте, верхних дыхательных путях, на слизистых оболочках гениталий. Они обладают низкой вирулентностью, но при стрессах, иммунодефиците, лечении глюкокортикоидными гормонами, антибиотиками, особенно тетрациклинового ряда, при повреждении кожных и слизистых оболочек могут вызывать заболевание, которое называют кандидозами, т.е. этот род грибов относится к оппортунистическим.

Первичные формы встречаются при иммунодефицитах и у новорожденных животных с физиологически незрелой иммунной системой. Вторичные кандидозы развиваются при снижении защитных механизмов хозяина и развитии вторичных иммунодефицитов.

Вирулентность кандид связана с адгезией и выделением ферментов (протеаз и фосфолипаз).

При локальных кандидозах повреждается конкретный орган или ткань. Например, могут развиваться макроабсцессы и микроабсцессы кожи, поражение слизистой оболочки рта, глотки, влагалища, ногтевой пластины.

Системные кандидозы поражают определенные системы органов: кандидозы дыхательной системы, мочеполовой системы, кишечника.

Генерализованные кандидозы вызывают поражение всего организма в виде сепсиса.

Кандиды являются истинными эукариотическими клетками, имеющими хорошо выраженное ядро и все виды органоидов. Размножаются обычно многополюсным почкованием, образуют терминальные хламидоспоры. Хламидоспоры крупные, круглые, двухконтурные.

Морфология кандид представлена 3 формами: дрожжеподобной, псевдомицелярной (псевдогифы) и истинным мицелием. Дрожжеподобная форма представляет собой крупные округлые или овальные клетки, грампозитивные. Псевдомицелярная имеет вид нитей, состоящих из вытянутых клеток. Обе эти морфологические формы встречаются в макроорганизме. Третья форма - истинный мицелий образуется при культивировании *in vitro* и представляет собой ростовые трубочки. Дрожжевая форма обеспечивает колонизацию покровных тканей, а псевдогифы инвазию, т.е. внедрение через эти ткани во внутреннюю среду организма.

Кандиды являются аэробами. Хорошо растут на простых жидких и плотных питательных средах, предназначенных для культивирования грибов: среда Сабуро, рисовый, кукурузный, картофельный агар.

Оптимальными условиями являются температура в пределах 25- 30 °С, рН 6,0- 6,5. На жидких питательных средах образуется легкое помутнение и осадок. На плотных питательных средах через 2-3 суток вырастают круглые белого или кремового цвета непрозрачные сметанообразные колонии достаточно крупных размеров, до 1 см. Псевдомицелий вырастает в агар. На мясопептонном бульоне с глюкозой вырастает псевдомицелий.

При пересеве колоний с плотной питательной среды в сыворотку животных и инкубировании при 37°С в течение 3 часов образуются ростовые трубочки.

Кандиды ферментируют углеводы с образованием кислоты с газом или без него.

Для обнаружения кандид, из патологического материала (кожи, роговых чешуек, слизи, гноя, мокроты, кала, крови) готовят мазки, которые окрашивают одним из растворов красителей: 1% спиртовым раствором метиленового синего, генцианфиолетовым, водным раствором фуксина, по Граму или после обработки 10% раствором КОН раствором Люголя двойной концентрации.

Род *Malassezia*

Род малассезий состоит из 12 видов. Основным этиологическим фактором является *M. pachydermatis*. Малассезий представляют собой дрожжеподобные грибы, относящиеся к базидиомицетам. Это одноклеточные организмы, имеющие овальную форму с толстой оболочкой, размножаются почкованием. Почкующиеся клетки по форме напоминают «отпечаток стопы». Размеры клеток 3,0-6,5х 2,5 мкм. В мазках располагаются одиночно или скоплениями.

Растут при температуре 36-40 °С, причем, у некоторых штаммов рост при 40 °С был более пышным, чем при 36 °С.

На среде Барфатини *M. pachydermatis* на 7-е сутки роста образует округлые колонии диаметром 3-5 мм светло-желтого или светло-кремового цвета, слегка выпуклые, морщинистые с матовой поверхностью, неровными краями, слабо фестончатые. Вокруг колоний имеется зона помутнения шириной 2-3 мм.

На среде Сабуро колонии округлой формы от светло-желтого до светло-коричневого цвета, выпуклые, гладкие, матовые.

Малассезии обладают каталазой, ферментируют мочевины и цитрат.

19.5. Возбудители псевдомикозов

Псевдомикозом называют хроническое незаразное заболевание, которое вызывают чаще всего бактерии - представители рода актиномицетов (*Actinomyces*). Представители этого рода являются типичными прокариотами, но в отличие от других бактерий способны к мицелиальному росту и размножению спорами, как грибы. От грибов они отличаются строением ядерного аппарата, который не заключен в ядерную оболочку, а свободно расположен в цитоплазме - нуклеоид. Другим отличием является строение клеточной стенки, которая у актиномицетов построена из пептидогликанов, но не содержит хитин и целлюлозу, как у грибов.

Тело актиномицетов представляет собой тонкие ветвящиеся нити - гифы длиной от 50 до 600 мкм. Они могут быть прямыми или спиралевидными, иметь форму латинских букв V и Y. Окрашиваются по Граму положительно. Некоторые виды могут образовывать капсулу. Неподвижны. Размножаются с помощью спор, которые формируются в результате сегментации и фрагментации гиф. Являются облигатными и факультативными анаэробами. Растут при температуре 3-40 °С, оптимум - 35-37 °С. Некоторые виды неприхотливы при росте, другие нуждаются в добавлении к питательным средам крови или сыворотки. Для выделения актиномицетов используют среды Гаузе, Чапека с крахмалом, на которых они образуют исчерченные колонии на 10-14 сутки. Молодые колонии более тонкие, плоские, размером 0,3-0,5 мм, зрелые колонии более крупных размеров (1-1,5 мм).

При росте на плотных питательных средах актиномицеты образуют врастающий в среду субстратный мицелий и воздушный мицелий, поднимающийся над средой и окрашенный в различные цвета: белые, синие, желтые, зеленые, фиолетовые, красные, оранжевые, черные и другого цвета. Другие виды могут образовывать гладкие белые с более темным центром круглые колонии с волнистыми краями (*Actinomyces bovis*).

Актиномицеты разного вида обладают различной биохимической активностью. У некоторых она низкая, у других - достаточно выраженная. Многие виды обладают каталазой и фосфатазой, амилазой, расщепляют белки и жиры, разжижают желатин. Углеводы ферментируют с образованием кислоты. Разные виды ферментируют различные углеводы, что является диагностическим признаком.

Для обнаружения актиномицетов в патологическом материале используют гной из свищей. Для обнаружения друз комочки из патологического материала наносят на предметное стекло в каплю 10-20% щелочи, слегка подогревают. Накрывают покровным стеклом и микроскопируют. Друзы можно обнаружить и в окрашенном материале.

Исследуемый материал засевают в жидкие и на плотные питательные среды, посеvy инкубируют в аэробных и анаэробных условиях. У чистой культуры изучают биохимическую активность. Дифференциацию видов актиномицетов проводят на основании культуральных и биохимических признаков.

19.6. Микотоксикозы

Существует группа заболеваний, называемых микотоксикозами, которые обусловлены попаданием в организм микотоксинов, образующихся в процессе жизнедеятельности ряда микроскопических плесневых грибов. Выделено более 300 видов микотоксинов, продуцируемых представителями 350 видов грибов, однако практическое значение как загрязнители пищевых продуктов имеют лишь около 20. Среди них наиболее распространены и опасны для здоровья животных и человека афлатоксины B1, B2, G1, G2, M1 (продуценты — грибы рода *Aspergillus*),

трихотеценовые микотоксины (в том числе дезоксиниваленон и зеараленон, продуценты — грибы рода *Fusarium*), охратоксины, цитринин, цитреовиридин (продуценты — грибы родов *Aspergillus* и *Penicillium*), алкалоиды спорыньи (*Claviceps purpurea*), в том числе лизергиновая кислота и агроклавин.

Микотоксикозы являются разновидностью пищевых и кормовых отравлений — пищевых интоксикаций, и причиной их являются, как правило, зерно и зерновые продукты. Зерно поражается грибами в период созревания и уборки урожая при неблагоприятных метеорологических условиях и неправильном хранении.

Афлатоксины

Острое поражение афлатоксинами встречается редко, в основном это хронический микотоксикоз, при котором поражается печень и толстый кишечник с развитием в этих органах ракового поражения. У самок раковое перерождение возникает позже, чем у самцов из-за замедления его развития половыми гормонами. Наиболее чувствительными к действию афлатоксинов поросята, наименее — взрослый крупный рогатый скот и овцы.

Афлатоксина могут вырабатываться в растущих растениях, при их повреждении насекомыми, могут вырабатываться при заражении растений во время уборки и хранения. Продуцентом является род *Aspergillus*. Чаще всего зараженными бывают кукуруза, арахис и многие другие пищевые и кормовые культуры. Афлатоксины В1, В2, G1, G2 встречаются в растениях, а афлатоксин М — в молоке.

Охратоксины

Охратоксины делят на А, В, С, D и эфиры охратоксина А. Наиболее высокая токсичность у охратоксина А. продуцентами охратоксинов являются аспергиллы и микробы рода *Penicillium*. Чаще всего охратоксины вырабатываются плесневыми грибами в зерне, подвергшемся самосогреванию. При остром течении, которое может быть у молодняка, получившего этот токсин с молоком, наступает заболевание с рвотой, поносом, жаждой, депрессией, при хроническом течении у молодняка имеет место отставание в росте, а у взрослых животных аборт, рассасывание эмбрионов. При этом микотоксикозе поражаются почки, чаще всего наиболее тяжелая картина болезни у самок.

Рубратоксикозы

К этим токсикозам наиболее чувствительны свиньи из сельскохозяйственных животных, особенно молодняк. Продуцентами являются грибы рода *Penicillium*, поражающие зерно-бобовые, семена подсолнечника, комбикорма, арахис. Поросята погибают при первом сосании молока. Свиноматки могут погибнуть без клинических проявлений, но могут быть беспокойство, покраснение кожи ушей, головы, шеи, живота и паха, запоры, сменяемые диареей. На выгульном двореке больные животные роют ямы и ложатся в них.

Патуллотоксикоз

Продуцентами являются грибы родов *Penicillium*, *аспергиллы* и ряд других. Патуллотоксин относится к 1 классу токсичности, нарушает рост и деление клеток. Часто обнаруживается в свекле, силосе, проросшем зерне, многих фруктах. Этот микотоксин поражает центральную нервную систему, вызывает удушье.

Фузариотоксикозы

Развиваются у сельскохозяйственных животных и птиц при употреблении кормов с микотоксинами, образуемыми грибами рода *Fusarium*. Фузариозы делят на: обусловленные трихотеценами (Т-2 токсикоз) и обусловленные зеараленоном (F-2 токсикоз).

T-2 токсин высокотоксичен. Вызывает язвенный процесс во рту, на губах, пяточке у свиней, отек слизистой ротовой полости, отказ от еды, мышечную дрожь, парез тазовых конечностей. F-2 токсин особенно токсичен для свиней, приводит к эстрогенному действию на самок, может быть выпадение влагалища и прямой кишки, у молодых самцов наступает феминизация, у молодых самок – раннее половое созревание.

Методы лабораторного анализа микотоксикозов.

Для диагностики микотоксикозов в основном применяют биологический и химический метод диагностики, используя биопробных животных и метод флуоресценции, тонкослойную хроматографию. Параллельно проводят посевы на питательные среды, традиционно используемые для выделения микроскопических грибов.

В лабораторию направляют пробы всех кормов, входивших в суточный рацион животного в течение одного месяца до проявления болезни, а также остатки кормов из кормушек, содержащее желудочно-кишечного тракта павших животных.

Прежде всего определяют внешний вид, цвет, запах корма. В качестве биопробных животных используют кроликов, аквариумных рыбок, белых мышей, иногда сельскохозяйственных животных. На кроликах ставят кожную пробу, предварительно выстригают участок шерсти в области бедра, лопатки или бока. Учет проводят на следующий день после повторного нанесения экстракта и продолжают вести наблюдение в течение 3...5 дней в зависимости от реакции, после чего дают окончательную оценку: а) корм нетоксичный — отсутствуют воспалительная реакция и изменения на коже; б) корм слаботоксичный — шелушение кожи, отечность, болезненность, незначительное утолщение кожи с образованием отдельных корочек; в) корм токсичный — резкая гиперемия, отек, утолщение кожи, болезненность, появление язвы и струпа.

В качестве дополнительного теста определяют токсичность кормов на аквариумных рыбках. В раствор экстракта помещают 5 рыбок независимо от пола и возраста. Ведут наблюдение в течение 24-30 часов. Оценка степени токсичности корма: а) нетоксичный — при гибели не более одной рыбки в течение 24 ч; б) слаботоксичный — при гибели 2...4 рыбок; в) токсичный — при гибели всех 5 групп за тот же отрезок времени.

При проведении пробы на белых мышах им однократно в желудок вводят экстракт кормов и наблюдают в течение 3 суток. Оценка результатов корма: а) нетоксичный — мыши живы, на вскрытии у убитых мышей патологоанатомических изменений нет; б) слаботоксичный — мыши живы, при вскрытии у убитых обнаруживают геморрагическое воспаление желудочно-кишечного тракта, чаще очаговое; в) токсичный — гибнут все мыши (или одна), на вскрытии павших или убитых обнаруживают геморрагическое воспаление желудочно-кишечного тракта, часто дегенерацию тканей печени, почек или кровоизлияние в паренхиматозных органах. Если токсичность корма не выявлена всеми перечисленными методами, подозрительные корма скармливают лабораторным животным (цыплятам, утятам, голубям, белым мышам, морским свинкам, кроликам) или животным тех видов, которые болели в хозяйстве.

Вопросы для самоконтроля

1. Назовите представителей микроскопических грибов, вызывающих оппортунистические микозы.

2. Охарактеризуйте грибы рода *Aspergillus*. Опишите их морфологические, культуральные признаки, охарактеризуйте их рост на питательных средах.
3. Охарактеризуйте грибы рода *Penicillium*. Опишите их морфологические, культуральные признаки, охарактеризуйте их рост на питательных средах.
4. Каким образом при просмотре микроскопического препарата установить принадлежность грибов к роду *Aspergillus* или *Penicillium*.
5. Охарактеризуйте грибы родов *Candida* и *Malassezia*. Какие заболевания вызывают эти грибы? Опишите их морфологические, культуральные признаки, охарактеризуйте их рост на питательных средах.
6. Какие заболевания называют псевдомикозами? Охарактеризуйте микроорганизмы, вызывающие эти болезни.
7. Назовите представителей микроскопических грибов, вызывающих микотоксикозы.
8. Чем отличаются микозы от микотоксикозов?
9. Назовите микотоксины, которые известны как возбудители микотоксикозов у животных.
10. Как следует проводить лабораторную диагностику при подозрении на микотоксикоз у животных?
11. Какой материал следует направлять в ветеринарную лабораторию при подозрении микотоксикоза у животных?
12. Каких лабораторных животных следует использовать при определении микотоксинов? Как ставят биопробу?
13. Какие заболевания животных называют микозами? Как они передаются от животного к животному?
14. Назовите основных возбудителей глубоких микозов и опишите патогенез этих микозов.
15. Охарактеризуйте морфологические, культуральные признаки возбудителя кокцидиоза.
16. Расскажите о географическом распространении кокцидиозов и гистоплазмозов
17. Охарактеризуйте морфологические, культуральные признаки возбудителя гистоплазмоза.
18. Охарактеризуйте дерматомикозы и назовите основных возбудителей этих болезней.
19. Опишите морфологические, культуральные признаки возбудителей трихофитии.
20. Какие средства профилактики трихофитии вы знаете?
21. Охарактеризуйте устойчивость трихофитона в окружающей среде.
22. Опишите морфологические, культуральные и биохимические признаки возбудителей микроспории.
23. Какие средства профилактики микроспории вы знаете?
24. Охарактеризуйте устойчивость возбудителей микроспороза в окружающей среде.
25. Каким образом может заразиться человек трихофитией и микроспорией?
26. Охарактеризуйте возбудитель фавуса. Какие животные в основном поражаются паршой?

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. Госманов, Р.Г. Микробиология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.К. Галиуллин, А.Х. Волков, А.И. Ибрагимова. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2017. — 496 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/91076>.
2. Госманов, Р.Г. Микробиология и иммунология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.И. Ибрагимова, А.К. Галиуллин. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2013. — 240 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/12976>.
3. Колычев, Н.М. Ветеринарная микробиология и микология. [Электронный ресурс] / Н.М. Колычев, Р.Г. Госманов. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2014. — 624 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/39147>

Дополнительная

1. Ветеринарная микробиология и иммунология : учебник / Г. В. Дунаев, Н. М. Колычев, Н. А. Радчук ; ред. Н. А. Радчук. - М. : Агропромиздат, 1991. - 383 с. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 5-10-001805-4;

Лекция 20

Возбудители некоторых особо опасных антропоозоонозных болезней. Возбудители сапа, лептоспироза, туляремии, хламидиоза. Морфологические, культуральные, биохимические свойства возбудителей. Диагностика. Профилактика.

20.1 Возбудитель сапа.

Сап — инфекционная болезнь偶蹄动物 (лошадь, осел, мул), протекающая преимущественно хронически. В естественных условиях могут болеть также хищники семейства кошачьих, верблюды и человек.

У однокопытных животных (осел, мул, лошак, лошадь) и верблюдов сап характеризуется острым началом болезни, которая переходит в хронически-латентное течение и проявляется мелкоочаговыми (узелковыми) гнойнонекротическими поражениями слизистых оболочек, кожи и внутренних органов. Летальность достигает 99 %.

Животные из семейства кошачьих (лев, тигр, леопард, пантера, рысь и кошки), а также медведи и грызуны болеют сапом остро, подостро с летальностью до 90 %. Болезнь у этих видов животных характеризуется развитием гнойно-некротического процесса в разных органах и тканях и выраженной интоксикацией.

Источником инфекции для людей служат животные, обычно лошади. Заражение происходит через выделения больного животного (носовой секрет и отделяемое кожных язв), реже через содержимое кишечника, мочу, молоко. Основной путь заражения в естественных условиях — контактный (80% случаев), через кожу верхних и нижних конечностей, лица и шеи, значительно реже через слизистые оболочки верхних дыхательных путей и конъюнктиву глаз. Фактически сап является профессиональной болезнью. В прошлом сапом заболели конюхи, ветеринары, работники конских боен.

Морфологические свойства. *Burkholderia mallei* (род *Burkholderia*, семейство *Burkholderiaceae* с типовым видом *B. serasia*) представляет собой прямую или слегка изогнутую цилиндрическую палочку длиной 1,0-4,0 мкм и шириной 0,3-0,6 мкм с закругленными концами. Морфология клеток меняется в зависимости от состава питательной среды, температуры выращивания и других факторов. В молодых культурах выявляют округлые, овоидные формы, в старых культурах возбудитель сапа более полиморфный: обнаруживаются кокковидные элементы и нитевидные формы с образованием узловатых и шишковидных утолщений за счет гранул полибетагидрооксимасляной кислоты (ПБГМ). Возбудитель сапа грамтрицателен, слабо окрашивается обычными анилиновыми красителями. Интенсивность окраски повышается при добавлении растворов фенола или едкого кали. Микробы, выделенные из патологического материала и выращенные на искусственных питательных средах, имеют биполярную окраску. Возбудитель сапа спор не образует, жгутиков не имеет, на поверхности клеток образования типа фимбрий не выявлены, у ряда штаммов при выращивании культуры *in vivo* обнаруживаются капсулы.

Культуральные свойства. Возбудитель сапа — строгий аэроб. Растет на обычных питательных средах — мясопептонном агаре и бульоне с добавлением 5% глицерина. Можно использовать агар на основе гидролизата казеина, а также питательный агар и триптиказосоевый агар. Температурный оптимум роста 37°C, pH 6,8-7,0. Не растет ни при 42°C, ни при 5°C. На плотных питательных средах может проявляться морфологическая диссоциация колоний. Наиболее типичным является рост на агаровых средах с глицерином в виде круглых полупрозрачных слизистых серовато-белых

колоний (S-форма). Постепенно разрастаясь, они в дальнейшем сливаются, образуя вязкий слизистый налет. R- и M- морфологические диссоцианты, в отличие от возбудителя мелиоидоза, наблюдаются редко. На глицериновом бульоне растет, создавая равномерное помутнение и придонный слизистый осадок, на поверхности формируется тонкая серовато-слизистая пленка. Колонии *V. mallei* не образуют пигментов, при постановке стандартных проб на гемолиз — реакция отрицательная. Общепринятая селективная среда для этого вида буркхольдерий не разработана, широко используемые в качестве ингибиторов посторонней микрофлоры при выделении из внешней среды и патологического материала *V. pseudomallei* и *V. serasia* аминогликозиды подавляют рост *V. mallei*. Имеются рекомендации на случай хранения культур или первичного подращивания добавлять в качестве ингибиторов посторонней микрофлоры генцианвиолет (0,3%) и полимиксин В (50 мкг/мл).

Биохимические свойства. Возбудитель сапа характеризуются способностью ферментировать дисахара до кислоты и без образования газа — глюкозу и лактозу, редуцировать нитрат, не ферментировать мальтозу, манит, сахарозу, разжижать желатин и не образовывать индола и сероводорода.

Антигенная структура. Типичные по своим фенотипическим характеристикам и патогенности штаммы *V. mallei* довольно однородны по своему антигенному спектру в иммуноэлектрофорезе, а в развернутой реакции агглютинации (РА) с сапной или мелиоидозной агглютинирующей сывороткой дают положительную реакцию в разведении 1:200 и менее. При создании специфических мелиоидозных диагностикумов в настоящее время используют адсорбированные или моноклональные Н-сыворотки. Высокая степень однородности антигенного спектра возбудителей сапа и мелиоидоза подчеркивается и однотипной реакцией больных животных на аллергены (маллеин или уитморин).

Факторы патогенности. Изучение факторов патогенности возбудителя сапа находится фактически на начальном этапе. В большинстве случаев имеющийся материал был получен в качестве сравнения с данными по близкородственному виду (*V. pseudomallei*). Выделенный из клеточной стенки *V. mallei* О-антиген обладает всеми типичными для грамотрицательных палочек свойствами эндотоксина. Описан внеклеточный капсульный полисахарид, обеспечивающий антифагоцитарную резистентность микроорганизма. Показано наличие у него III типа секреции, при этом выявлены тождественные возбудителю мелиоидоза гены на 2-й хромосоме, ответственные за этот процесс. Проведены также опыты по получению изогенных культур со сниженной вирулентностью за счет инсерционного мутагенеза с альтерацией функции отдельных участков обеих хромосом *V. mallei*, однако для установления точного механизма снижения вирулентности, выявленного у полученных мутантов, требуются дополнительные исследования.

Лабораторная диагностика.

Основной метод лабораторной диагностики сапа — серологический. Ставят РСК. В практике широко используют аллергический метод, основанный на применении маллеина (аллергический препарат для диагностики сапа). Маллеин закапывают на конъюнктиву. Положительная реакция характеризуется воспалением конъюнктивы и истечением гнойного секрета из внутреннего угла глаза. В сомнительных случаях или при болезнях глаз применяют подкожную пробу. У зараженных животных повышается температура тела, в месте введения маллеина образуется болезненная припухлость. Бактериологическое исследование проводят редко. Для лабораторных исследований

направляют трупы мелких животных, паренхиматозные органы, материала из отделяемого язв, пунктатов из абсцессов, полостей, лимфоузлов, мокроты, крови и т.д.

Предварительный ответ о наличии или отсутствии в исследуемом материале возбудителя сапа в первые 8-10 ч дается устно по результатам ускоренного и экспрессного исследования методом ПЦР и одной из иммунологических реакций (МФА, РА, РНГА, ИФА).

Окончательная идентификация культуры возможна лишь после постановки комплекса тестов, включая биологическую пробу на лабораторных животных. *Микроскопическое изучение* идентифицируемой культуры или материала из отделяемого язв, пунктатов из абсцессов, полостей, лимфоузлов, мокроты, крови и т.д. является обязательным предварительным этапом перед постановкой основных диагностических тестов. Окраска — по Граму, Романовскому-Гимзе и метиленовым синим. У больных животных и человека возбудитель сапа может быть выделен из гнойного отделяемого язв, абсцессов, крови, мокроты или биоптата закрытых абсцессов. С целью подавления роста посторонней микрофлоры в пробы, отобранные для бактериологического исследования, добавляют генцианвиолет (3 мкг/л или 1:300 ООО), полимиксин В (50 ЕД/мл) или ампициллин (15 мкг/мл). До начала исследований (Материал следует хранить при комнатной температуре, так как выдерживание проб в холодильнике может способствовать отмиранию в них возбудителя. Материал засевают в мясопептонный бульон с 5% глицерина (МППБ), одновременно делая посев на мясопептонный агар с 5% глицерина (МППА). Посевы внутренних органов умерших (Людей и павших животных, в зависимости от степени загрязнения посторонней микрофлорой, осуществляют методом мазков-отпечатков и посевом петлей на три чашки с МППА и в 3 пробирки с МППБ, которые инкубируют в течение 48-72 ч при 37°C. Учет производят ежедневно. При посеве на МППА возбудитель сапа через сутки формирует дисковидные слабовыпуклые полупрозрачные гладкие колонии. На плотных средах наблюдается морфологическая диссоциация колоний. На чашках с МППА могут формироваться R- и M- формы колоний возбудителя сапа. В жидких питательных средах через 24-48 ч наступает равномерное помутнение, образуется слизистый осадок, а на поверхности — тонкая пленка.

Идентификацию культур, подозрительных на принадлежность к виду *B. mallei*, проводят в два этапа, на которых последовательно определяют род и вид бактерий. Принципиальными для дифференциации *B. mallei* и *B. pseudomallei* являются три теста: неподвижность возбудителя, отсутствие роста при 42°C, чувствительность к гентамицину. Идентификация *B. mallei* в лабораториях, располагающих автоматическими системами типа API, может проводиться целенаправленно для подтверждения предварительной идентификации, выполненной другими методами.

Биопроба. Для постановки биопробы при диагностике сапа используют золотистых хомячков и морских свинок. Материал из абсцессов, отделяемого ран, мокрота, измельченные кусочки внутренних органов (печень, селезенка, почки, легкие) суспендируют в 2-3 мл 0,85%-ного раствора NaCl и после отстаивания надосадочную жидкость вводят двум животным подкожно по 0,5-1,0 мл в область бедра. При исследовании чистой культуры животных можно заражать внутрибрюшинно в объеме 1,0 мл. Срок наблюдения до 10 сут. Павших или забитых больных животных вскрывают и исследуют бактериологическим методом с целью выделения чистой культуры. Для этого их органы засевают на МППА и параллельно на среду с ингибиторами. Для интраперитонеального заражения желателен брать самцов, у которых при внутрибрюшинном заражении возникают перитонит и орхит (скротальный

феномен Штрауса), а в перитонеальном экссудате обнаруживается возбудитель сапа. Однако следует иметь в виду, что феномен Штрауса недостаточно специфичен и может быть вызван другими микроорганизмами. Биологический метод эффективен для диагностики острого сапа, выделить же возбудитель этим методом при хроническом течении сапа чаще не удается. Наиболее распространенным методом при первичной дифференциации колоний, подозрительных на *B. mallei*, был и остается метод постановки ориентировочной РА с агглютинирующей сапной сывороткой в разведении 1:50.

Серологическая диагностика. Кроме РСК используют реакцию коаггутинации на стекле (РКОА), реакцию непрямой гемагглютинации (РНГА) с антительным сапным эритроцитарным диагностикумом, метод флюоресцирующих антител (МФА), РА.

Иммунитет и средства специфической профилактики. Иммунитет при сапе клеточный, нестерильный, изучен слабо. В сыворотке крови зараженных животных появляются комплементсвязывающие антитела, через 17–24сут развивается гиперчувствительность замедленного типа. Специфическая профилактика не разработана. Больных животных уничтожают.

21.2. Возбудитель лептоспироза

Лептоспироз— инфекционная природно-очаговая болезнь животных и человека, характеризующаяся кратковременной лихорадкой, анемией, желтухой, гемоглинурией, геморрагическим диатезом, некрозом слизистых оболочек и кожи, атонией органов пищеварения, абортами. Лептоспиры относят к семейству *Leptospiraceae* (греч. *leptos*— тонкий, *speira*— виток, спираль) и роду *Leptospira*, который включает два вида: патогенный— *L. interrogans* и сапрофитный— *L. biflexa*. Патогенный вид представлен 183 сероварами, которые по составу антигенов объединены в 25 серологических групп. В инфекционной патологии животных наибольшее значение имеют серогруппы *Pomona*, *Tarassovi*, *Hebdomadis*, *Grippotyphosa*, *Icterohaemorrhagiae*, *Canicola*.

Морфология. Лептоспиры— спиралевидные бактерии диаметром 0,1–0,25мкм и длиной от 6–15 до 30 мкм, образующие около 20 мелких, тесно расположенных первичных завитков и 1–2 вторичных, придающих клетке форму букв Г, S, С. Осевая нить состоит из двух фибрилл. В темном поле они имеют вид тонких серебристых нитей с утолщенными и загнутыми в виде крючков концами. У клеток некоторых штаммов концы прямые (бескрючковые лептоспиры). Для лептоспир характерна активная подвижность, наиболее частый тип движения — вращательно-оступательный. Спор не образуют. Грамотрицательные, плохо окрашиваются анилиновыми красителями, по Романовскому — Гимзе — в красный цвет, фиксация мазка существенно изменяет их морфологию;

Культивирование. Лептоспиры— хемоорганотрофные факультативно-аэробные бактерии. Культивируют их в аэробных условиях при 28–30°C на специальных средах, содержащих 5–10% сыворотки крови кролика или овцы, дистиллированную, водопроводную, колодезную воду или фосфатный буфер (рН 7,2–7,6): среды Уленгута, Терских, Ферворта-Вольфа, Люашенко и др. Рост лептоспир обычно проявляется через 7–20сут, иногда через 1–2мес. Среда при этом не изменяется. На плотных средах (Кокса, ВГНКИ) образуют колонии S и R форм. S форма— типичная для патогенных штаммов, ее колонии прозрачные, в виде диска с ровным краем.

Биохимические свойства изучены недостаточно. Способность ферментировать углеводы отсутствует, образуют каталазу, оксидазу, липазу и другие ферменты.

Токсинообразование. Истинный экзотоксин лептоспиры не синтезируют. Они образуют эндотоксин и патогенные ферменты: гемолизин, фибринолизин, плазмокоагулазы, гиалурониазы, липазы, лецитиназу, которые выделяются в результате лизиса лептоспир. Патогенностью обладают свежесделанные штаммы лептоспир; при культивировании на питательных средах это свойство относительно быстро теряется.

Антигенная структура. Лептоспиры обладают белковым соматическим антигеном, определяющим их видовую специфичность. Поверхностные полисахаридные антигены служат критериями групповой и серовариантной дифференциации. Антигенные свойства лептоспир изучают в реакции микроагглютинации и методом иммуноадсорбционного анализа.

Устойчивость. В воде открытых водоемов патогенные лептоспиры сохраняются более 7–30 сут; будучи типичными гидрофилами, в почве, перенасыщенной водой, выживают до 280 сут; в свежем молоке — 8–24 ч; в почках убитых животных при 0–4 °С — до 28 сут; в замороженном мясе погибают через 10 сут. Чувствительны к действию поваренной соли: в засоленном (4,8% NaCl) мясе крупного рогатого скота погибают через 10 сут; в гипертоническом растворе поваренной соли (2,8%) — через 15 мин. При кипячении погибают моментально, при 56–58 °С — в течение 25–30 мин. Быстро гибнут при высушивании и под воздействием прямого солнечного света. Растворы (0,1%-й соляной кислоты, 0,5%-й фенола) инактивируют лептоспиры за 20 мин.

Патогенность. К лептоспирозу наиболее восприимчивы: крупный рогатый скот (серогруппы *L. pomona* и *L. hebdomadis*), свиньи (серогруппы *L. pomona* и *L. tarassovi*), овцы, лисицы, песцы, менее — лошади, козы, буйволы, верблюды, олени, ослы, собаки, кошки, куры. Болеет и человек. Основные носители лептоспир в природных очагах: серые и водяные полевки, ондатры, серые крысы, домовые мыши, землеройки. К экспериментальному заражению наиболее чувствительны золотистые хомяки, крольчата сосуны и молодые морские свинки.

Бактериологическая диагностика. Материал для исследования: кровь, моча, кусочки паренхиматозных органов, почка, транссудат из грудной и брюшной полостей, мочевой пузырь с содержимым, абортрованный плод. Патологический материал отбирается не позже 2 ч после гибели животного. Моча в летнее время исследуется в течение 3 ч.

Микроскопия.

Методы окраски: лептоспиры плохо окрашиваются анилиновыми красителями, по Романовскому-Гимзе — красные, также лептоспир можно обнаружить в срезах из органов после импрегнации серебром по методу Левадити.

Микроскопия в темном поле. Микроскопию проводят в раздавленной капле с конденсором «темного поля». Лептоспиры — спиралевидные бактерии диаметром 0,1–0,25 и длиной 6–30 мкм, образующие около 20 мелких, тесно расположенных первичных завитков и 1–2 вторичных, придающих клетке форму букв Г, S, С. В темном поле они имеют вид тонких, серебристых нитей с утолщенными и загнутыми в виде крючков концами.

Культивирование. Посевы производят на питательные среды: Уленгута, Терских, Ферворга-Вольфа, Любашенко и др.; Особенности выделения возбудителя: факультативные анаэробы; оптимальная температура 28–30 °С; срок культивирования от 7 дней до 1–2 мес.

Биопроба. Заражают золотистых хомячков 20–30-дневного возраста и крольчат-сосунов в возрасте 10–20 дней. На каждую пробу берут двух животных; на 4–5-й день

убивают первого, на 14-16-й день - второго. Из сердца, печени и почек убитых или павших животных проводят посевы.

Иммунитет и средства, специфической профилактики. После переболевания у животных формируется длительный и напряженный иммунитет, характеризующийся серовариантной специфичностью, поэтому возможны реинфекции. Отмечается также длительное лептоспиросительство и вследствие этого инфекционный иммунитет. При вакцинации коров за 1,5-4 мес, овец и свиноматок за 1,5-2 мес до родов колостральный иммунитет продолжается у телят до 2,5 мес, у ягнят и поросят - до 1,5 мес.

Серологическая диагностика. Используют реакцию микроагглютинации (РМА) и реакцию агглютинации (РА). Пробы крови берут на 5-7-й день болезни и при исследовании отдельных животных повторно через 7-10 дней. РМА ставят в лунках агглютинационных пластинок из плексигласа.

Для выявления лептоспир в крови, моче, паренхиматозных органах, в тканях abortированного плода, в воде и почве предложен иммунофлюоресцентный метод.

Биопрепараты для специфической профилактики: депонированная поливалентная вакцина ВГНКИ против лептоспироза животных. Иммунитет после вакцинации наступает через 14-20 дней и длится у молодняка до 6 мес, у взрослых животных - до 1 года.

Биопрепараты для специфической терапии: иммунная выворотка против лептоспироза сельскохозяйственных и промысловых животных. Иммунитет сохраняется 10-14 дней.

22.3. Возбудитель туляремии

Туляремия — природноочаговая болезнь, характеризующаяся лихорадкой, параличами у молодняка, увеличением лимфатических узлов, абортами. Механизмы и пути передачи возбудителя инфекции весьма разнообразны: контактный (через кожные покровы или слизистую оболочку глаза), инокулятивный, или трансмиссивный (через кожные покровы при укусе членистоногого или млекопитающего), алиментарный (через пищеварительный тракт) и аспирационный (через дыхательные пути). Отличительной особенностью туляремии является практически 100%-ная восприимчивость человека к инфекции без различия пола и возраста при небольших инфицирующих дозах, а также отсутствие контагиозности. Заражение происходит алиментарным, воздушно-пылевым и трансмиссивным путями. Бактерии могут проникать в организм через неповрежденные кожные покровы, конъюнктиву, дыхательные пути.

Морфология. Возбудитель туляремии *Francisella tularensis* — мелкая (0,2x0,2-0,7 мкм), грамо-трицательная, неподвижная, не образующая спор коккобактерия, которая отличается полиморфизмом и является факультативным анаэробом. В окрашенных мазках из 24-48-часовой культуры на плотных питательных средах обычно обнаруживаются кокковидные клетки диаметром 0,3-0,5 мкм, располагающиеся одиночно или группами. На жидких питательных средах чаще вырастают слегка удлинённые палочки того же диаметра. В тканях животных возбудитель встречается как в виде кокков, так и коккобактерий. Бактерии размножаются, как правило, почкованием.

Культивирование. Туляремиальные бактерии — внутриклеточные микроорганизмы, приспособленные к строго паразитическому образу жизни; отличаются прихотливостью при культивировании на искусственных питательных средах и не растут на обычных мясопептонном агаре и бульоне, что служит одним из признаков *F. tularensis* при идентификации возбудителя. Рост можно получить лишь на более

богатых питательными веществами средах, особенно при добавлении крови и яичного желтка. Оптимальная температура для выращивания туляремийных бактерий 36-37°C, при более низких температурах размножение бактерий замедляется, а при 20°C и ниже — прекращается. Оптимальная концентрация водородных ионов для *F.tularensis* находится в диапазоне 6,8-7,2. Наиболее практичной и часто применяемой средой для выделения и культивирования туляремийного микроба является свернутая желточная среда. Посевы на нее могут быть произведены методом отпечатков кусочками органов или путем тщательного втирания кусочка органа в поверхность среды. При обильном засеве рост туляремийных бактерий появляется в виде сплошного роста уже через 18-24 ч инкубирования при 37°C, а при малом количестве бактерий отдельные колонии становятся заметными на 3-5-е сутки и позднее. Посевы следует выдерживать в термостате до 10-12 сут. По внешнему виду рост туляремийных бактерий на желточной среде резко отличается от роста большинства других бактерий: имеет вид извилистого слегка блестящего (сухого) почти бесцветного нежного налета. Для выделения и культивирования туляремийного микроба используют также агаровую среду с добавлением желтка.

Биохимические свойства. Туляремийные бактерии относительно слабо ферментируют сахара и спирты с образованием кислоты, но не газа. Для определения ферментативной активности применяют жидкие среды специального состава. Все штаммы *F. tularensis* ферментируют глюкозу, мальтозу, маннозу, левулезу, фруктозу, галактозу и не ферментируют сахарозу (исключение — *F. tularensis* subsp. *novicida*), лактозу, ксилозу, арабинозу, рибозу, рамнозу, маннит и др.). Отличительной особенностью *F. tularensis* subsp. *tularensis*, *novicida*, *mediasiatica* является способность ферментировать глицерин. Этот признак используется для дифференциации подвидов возбудителя

Факторы патогенности. До настоящего времени точно не установлены факторы патогенности возбудителя туляремии. Известно, что вирулентные штаммы обладают выраженным капсульным покровом (0,02-0,04 мкм), утрата которого ведет к потере вирулентности. Экзо- или эндотоксины у туляремийного микроба до сих пор не обнаружены, каких-либо специализированных белков или гетерогенных молекул, ответственных за реализацию вирулентности, также не найдено. Из возможных факторов патогенности изучен лишь липополисахарид (ЛПС), с которым связывают реализацию многих жизненно важных функций. Важной особенностью франсиселл является способность персистировать в макрофагах.

Антигенная структура. Патогенные варианты возбудителя туляремии (S-форма) имеют два антигенных комплекса, локализованных на поверхности клетки. Первый из них — Vi антиген — содержит липиды и белки, определяет вирулентность и иммуногенность микроба; второй — O- антиген — расположен в клеточной стенке и капсулоподобном слое бактерии, термостабильный гликопротеид. Оба эти комплекса обладают аллергенными и антигенными свойствами, индуцируют образование агглютинирующих, преципитирующих и комплементсвязывающих антител, а также гиперчувствительность замедленного типа. Функцию аллергена у этой бактерии выполняет полисахаридно-полипептидный комплекс.

Устойчивость. В воде или влажной почве при 4°C сохраняется без снижения вирулентности свыше 4 мес., в воде при 20-25°C — 10-15 сут, в зерне и соломе при температуре ниже 0°C — до 6 мес., при 8-12°C — 56 сут, при 20-30°C — не более 20 сут. В замороженном мясе возбудитель жизнеспособен до 93 сут, в молоке и сливках при 8-10°C — не менее 3 нед., в замороженном молоке — до 104 сут. В замороженных

трупам животных, павших от туляремии,— свыше 3 мес., в их шкурках при 8–12 °С— более месяца, при 32–33 °С— 1 нед. Микроб устойчив к высушиванию. Особенно чувствителен к этиловому спирту (погибает через 0,5–1 мин). Чувствителен к дезинфектантам— лизолу, фенолу, креолину, но наиболее— к хлорной извести. Неустойчив ко многим антибиотикам— стрептомицину, левомицетину, тетрациклину, неомицину, канамицину; устойчив к пенициллину.

Лабораторная диагностика.

При взятии, доставке в лабораторию и исследовании материала на туляремию соблюдают меры предосторожности, предусмотренные правилами работы с особо опасными инфекциями. Материалом для исследования служат печень, почки, селезенка, увеличенные лимфатические узлы, взятые от трупов крупных животных; трупы грызунов направляют целиком. Схема исследования материала включает бактериоскопию, выделение чистых культур, биологическую пробу.

Мазки-отпечатки из органов животных окрашивают по Романовскому— Гимзе; учитывают большие скопления коккобактерий сиреневого цвета. Бактериоскопию следует рассматривать как ориентировочный метод.

Для индикации бактерий используют реакцию прямой иммунофлюоресценции, однако этот метод является сигнальным, и положительные результаты должны подтверждаться выделением культуры возбудителя.

Для этой цели проводят посев патологического материала на специальных питательных средах (свернутая желточная среда МакКоя, среды Дрожжевкиной и Емельяновой). Одновременно делают контрольные посева на МПА и в МПБ, которые инкубируют в аэробных и анаэробных условиях при температуре 37 °С. При обильном засеве рост туляремийных бактерий на свернутой желточной среде появляется в виде сплошного налета уже через 18–24 ч и достигает максимума через 2–3 сут; при скудном засеве отдельные колонии заметны на 3–5 е сутки и позднее. Поэтому засеянные среды рекомендуют инкубировать 10–14 сут. На среде Дрожжевкиной микроб растет диффузно и наличие микробов контролируется микроскопическим исследованием мазков. Свежевыделенную культуру идентифицируют по морфологическим (неподвижные коккобактерии), тинкториальным (грамотрицательные бактерии) свойствам, характеру роста на свернутой желточной среде, отсутствию роста на универсальных питательных средах, а также по результатам пробирочной РА со специфической агглютинирующей сывороткой.

Биологическая проба. Самый чувствительный и надежный метод для обнаружения туляремийных бактерий в любом материале. Заражают белых мышей, реже морских свинок. Суспензию из кусочков органов и лимфатических узлов вводят в дозе 0,5 мл подкожно или интраперитонеально или втирают в свежестриженный участок кожи. Белые мыши погибают через 3–4 сут, иногда через 8–12 сут, морские свинки— на 4–6-е сутки, при слабой инфицированности материала — в течение 8–20 сут.

Серологический диагноз. Осуществляют с помощью реакций агглютинации, преципитации, непрямой гемагглютинации и нейтрализации антител. РА— достаточно точный метод исследования на туляремию. Антигеном служит туляремийный диагностикум, приготовленный из микробных клеток, убитых формалином. РА ставят двумя способами: пробирочным и кровяноапелным. Диагностическими титрами при туляремии следует считать: для овец— 1:25, для крупного рогатого скота и свиней— 1:100. Реакцию непрямой гемагглютинации (РНГА) ставят с эритроцитами, сенсibilизированными туляремийным антигеном или с антительным эритроцитарным диагностикумом.

Реакция преципитации обладает относительно неольшой чувствительностью, и ее применяют в основном при исследовании трупов грызунов.

Аллергический метод. Гиперчувствительность замедленного типа у животных при туляремии развивается рано (до пятого дня болезни) и сохраняется длительное время, поэтому аллергический метод может быть использован для ранней и ретроспективной диагностики. Аллергеном служит тулярин; препарат вводят внутрикожно, реакцию учитывают дважды— через 24 и 48ч.

Иммунитет и средства специфической профилактики. У переболевших животных создается стойкий и длительный иммунитет, имеющий в своей основе тканевые и гуморальные механизмы. В сыворотках переболевших животных обнаруживают агглютинины, довольно рано формируются клеточные реакции защиты. Для профилактической иммунизации человека применяют сухую живую вакцину против туляремии, предложенную. Для сельскохозяйственных животных вакцина не разработана.

23.4. Возбудители хламидиозов

Хламидии принадлежат к семейству *Chlamydiaceae* и роду *Chlamydia*, который включает более 30 возбудителей. На основании морфологических и биохимических отличий хламидии разделены на два вида: *Chlamydia trachomatis* и *Chlamydia psittaci*.

Патогенные хламидии вызывают разнообразные по патогенезу и симптомам болезни — пневмонии, аборт, энтериты, менингоэнцефалиты, полиартриты, конъюнктивиты. *Chlamydia psittaci* вызывает патологию у многих видов животных. Данное заболевание свойственно и человеку. Наиболее значимы орнитоз и хламидийные аборт сельскохозяйственных животных.

Морфология и биологические свойства Морфология хламидий своеобразна. Инфекционные формы — округлые элементарные тельца величиной 200–400 нм. Они неподвижные, грамтрицательные. При окрашивании по Маккиавелло приобретают преимущественно красный цвет, по Романовскому — Гимза—красно_фиолетовый (это зависит от стадии их развития). Под обычным световым микроскопом имеют вид точечных образований. Элементарные тельца имеют двухслойную оболочку, электронно плотную цитоплазму (нуклеоид) в центре, окруженную более светлым периферическим слоем, в состав рибосом входят ДНК и РНК.

Культивирование. Хламидии являются строгими внутриклеточными паразитами. Их культивируют в желточных мешках куриных эмбрионов, культурах диплоидных и перевиваемых клеток. Размножение возбудителя происходит быстро и эффективно. Элементарные тельца, попавшие в цитоплазматические вакуоли клетки, превращаются в крупные ретикулярные (сетчатые) формы, которые растут и размножаются путем бинарного деления.

Устойчивость изучена мало. Предполагают, что вне организма животных возбудители активны лишь несколько дней. В воде при комнатной температуре сохраняют инфекционность 2–3 сут. Легко инактивируются при высоких и очень низких значениях pH. В лабораторных условиях сохраняются месяцами, а в высушенном состоянии — годами.

Антигенная структура. Элементарные тельца хламидий содержат групповой термостабильный компонент связывающий антиген (участвует в РСК), общий для возбудителей орнитоза, аборта крупного рогатого скота и овец, энзоотической пневмонии свиней и хламидий других видов (этот антиген не разрушается при кипячении, автоклавировании), и видоспецифический термолabile антиген,

который инактивируется при нагревании до 60_С, реагирует с сыворотками, специфичными в отношении отдельных видов хламидий. Первый из этих антигенов может быть выявлен в РСК, РА, реакции преципитации в геле, РИФ; второй — в РН, РСК, РП. Кроме того, в элементарных тельцах обнаружен гемагглютинин, повидимому, имеющий связь с группоспецифическим антигеном и выявляемый в РГА, РЗГА и РНГА.

Возбудители основных хламидиозов. *Chlamydia psittaci* вызывает патологию у многих видов животных, включая диких и синантропных птиц. Болеет также человек. Наиболее значимы орнитоз и хламидийные аборты сельскохозяйственных животных (крупного и мелкого рогатого скота, свиней, лошадей).

Орнитоз (пситтакоз) — острая лихорадочная болезнь птиц и человека. Протекает латентно и остро как кишечная инфекция (птицы) или с признаками пневмонии (телята, свиньи). У человека отмечается легочная форма орнитоза.

Хламидийный аборт (синонимы: энзоотический аборт, «вирусный аборт» и др.) — болезнь, протекающая чаще хронически с поражением околоплодных оболочек, что приводит к абортам, преждевременному рождению мертвых или нежизнеспособных телят, ягнят, поросят, жеребят; иногда (при проникновении хламидий в кровь) возникают пневмония, энтериты и полиартриты (последние патологические состояния отмечаются и у людей); у телят до 6_месячного возраста болезнь характеризуется поражением респираторных путей, пневмонией, диареей, иногда нарушением функций центральной нервной системы.

Хламидии, вызывающие инфекционный процесс у сельскохозяйственных животных, относят к одному виду — *Ch. psittaci*. Поэтому их основные биологические свойства очень сходные.

Лабораторная диагностика. Хламидиозы, в том числе хламидийные аборты, сельскохозяйственных животных диагностируют в основном серологическим методом. Для выделения возбудителей хламидийного аборта используют абортированный плод или его паренхиматозные органы и желудок, экссудат из брюшной полости, котиледоны, выделения из шейки матки и влагалища абортировавшего животного. При диагностике хламидийного аборта крупного рогатого скота суспензией патологического материала заражают естественно_восприимчивых животных: морских свинок, белых мышей и иногда суточных цыплят. У морских свинок при подкожном или внутрибрюшинном заражении (по 0,4–0,5 мл) через 7–8 сут. повышается температура тела до 40,5 С, болезнь заканчивается летально. При вскрытии обнаруживают некрозы в печени, воспалительные изменения в легких, а так же скопление серозного и фибринозного экссудата в брюшной полости. В экссудате обычно находят элементарные тельца возбудителя. Беременные морские свинки, как правило, abortируют через 10–20 сут. после введения материала. Белые мыши чувствительны при разных способах заражения: интраназальном, внутримышечном (по 0,2 мл) и внутрибрюшинном (по 0,5 мл). В результате 60–80% мышей погибает через 6–8 сут. При вскрытии трупов обнаруживают увеличение печени, селезенки, геморрагии в легких, скопление темно-коричневого экссудата в брюшной полости (после внутрибрюшинного введения материала).

Серодиагностику осуществляют с помощью РСК (диагностически достоверен титр 1:10) и РИФ. Ретроспективная диагностика с помощью РСК основана на исследовании парных сывороток крови у абортировавших коров. Кровь берут сразу после аборта и через три недели после него. Обычно наблюдается начительное повышение титра антител (титры их к группоспецифическому антигену достигают от 1:64 до 1:128).

Гемагглютинирующие свойства возбудителя определяют в РГА и РЗГА, используя эритроциты белых мышей или кур. Срок полного лабораторного исследования при диагностике хламидиоза составляет 1,5–2 мес. Предварительный диагноз на основании результатов микроскопического и серологического исследований может быть поставлен через трое суток после поступления патологического материала. При дифференциальной диагностике следует исключить бруцеллез, вибриоз, листериоз, сальмонеллез.

Иммунитет изучен недостаточно. Установлено, что в формировании его участвуют клеточные и гуморальные факторы. При хламидийном аборте в крови, молозиве, молоке коров выявляют комплементсвязывающие и нейтрализующие антитела, гемагглютинины, относящиеся к классам М и G. После аборта животные приобретают довольно стойкий иммунитет к реинфекции и могут давать полноценное потомство. Овцематки в первые 2–3 года после появления хламидиоза в хозяйстве abortируют в 60% случаев, в последующие годы количество абортов снижается до 5%, в дальнейшем окоты у овец проходят нормально. Это свидетельствует о формировании у овец естественного активного иммунитета, обеспечиваемого комплементсвязывающими и нейтрализующими антителами, которые сохраняются у переболевших животных около 1,5 лет. От взрослых животных (матерей) антитела передаются через молозиво молодняку, формируя у новорожденных телят, ягнят, поросят, жеребят пассивный колостральный иммунитет.

Биопрепараты. Для специфической профилактики хламидийного аборта рогатого скота и свиней испытан ряд экспериментальных вакцин: мертиолат_вакцина, эмульсин, вакцина формализированная адсорбатвакцина, инактивированная с масляным адьютантом вакцина (импортные). Однако эти вакцины пока не нашли широкого производственного применения. Для лечения больных хламидиозом телят используют сыворотку реконвалесцентов. Получают такую сыворотку от животных_доноров, у которых обнаруживают специфические комплементсвязывающие антитела в высоких титрах.

Вопросы для самоконтроля

1. Назовите вид микроорганизма, вызывающего сап у животных. Какие клинические признаки возникают у различных животных, больных сапом?
2. Охарактеризуйте морфологические и культуральные, антигенные признаки возбудителя сапа, опишите лабораторную диагностику.
3. Назовите вид микроорганизма, вызывающего лептоспироз у животных. Какие клинические признаки возникают у различных животных, больных лептоспирозом?
4. Охарактеризуйте морфологические и культуральные признаки возбудителя лептоспироза, опишите лабораторную диагностику.
5. Назовите вид микроорганизма, вызывающего туляремию у животных. Какие клинические признаки возникают у различных животных, больных туляремией?
6. Охарактеризуйте морфологические и культуральные признаки возбудителя туляремии, опишите лабораторную диагностику.
7. Назовите вид микроорганизма, вызывающего хламидиозы у животных. Какие клинические признаки возникают у различных животных, больных хламидиозами?
8. Охарактеризуйте морфологические и культуральные признаки возбудителя хламидиозов, опишите лабораторную диагностику..

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. Госманов, Р.Г. Микробиология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.К. Галиуллин, А.Х. Волков, А.И. Ибрагимова. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2017. — 496 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/91076>.
2. Госманов, Р.Г. Микробиология и иммунология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.И. Ибрагимова, А.К. Галиуллин. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2013. — 240 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/12976>.
3. Колычев, Н.М. Ветеринарная микробиология и микология. [Электронный ресурс] / Н.М. Колычев, Р.Г. Госманов. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2014. — 624 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/39147>

Дополнительная

1. Ветеринарная микробиология и иммунология : учебник / Г. В. Дунаев, Н. М. Колычев, Н. А. Радчук ; ред. Н. А. Радчук. - М. : Агропромиздат, 1991. - 383 с. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 5-10-001805-4;

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Азаев, М.Ш. Теоретическая и практическая иммунология. [Электронный ресурс] / М.Ш. Азаев, О.П. Колесникова, В.Н. Кисленко, А.А. Дадаева. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2015. — 320 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/600332>.
 2. Атаев, А.М. Ихтиопатология. [Электронный ресурс] / А.М. Атаев, М.М. Зубаирова. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2015. — 352 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/61355>
 3. Ветеринарная микробиология и иммунология : учебник / Г. В. Дунаев, Н. М. Колычев, Н. А. Радчук ; ред. Н. А. Радчук. - М. : Агропромиздат, 1991. - 383 с. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 5-10-001805-4;
 4. Госманов, Р.Г. Микробиология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.К. Галиуллин, А.Х. Волков, А.И. Ибрагимова. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2017. — 496 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/91076>.
 5. Госманов, Р.Г. Микробиология и иммунология. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, А.И. Ибрагимова, А.К. Галиуллин. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2013. — 240 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/12976>.
 6. Госманов, Р.Г. Практикум по ветеринарной микробиологии и микологии. [Электронный ресурс] / Р.Г. Госманов, Н.М. Колычев, А.А. Барсков. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2014. — 384 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/45680>
 7. Калмыкова, М.С. Основы полимеразной цепной реакции с разными форматами детекции. [Электронный ресурс] / М.С. Калмыкова, М.В. Калмыков, Р.В. Белоусова. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2009. — 80 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/513>
 8. Колычев, Н.М. Ветеринарная микробиология и микология. [Электронный ресурс] / Н.М. Колычев, Р.Г. Госманов. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2014. — 624 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/39147>
 9. Костенко, Т.С. Практикум по ветеринарной микробиологии и иммунологии / Т.С. Костенко, Е.И. Скаршевская, С. С. Гительсон. - М. : Агропромиздат, 1989. - 272 с. : ил. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 5-10-000679-X : 0-85
 10. Масимов, Н.А. Инфекционные болезни пушных зверей. [Электронный ресурс] / Н.А. Масимов, Х.С. Горбатова, И.А. Калистратов. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2013. — 128 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/38840>.
 11. Сидорчук, А.А. Инфекционные болезни лабораторных животных. [Электронный ресурс] / А.А. Сидорчук, А.А. Глушков. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2009. — 128 с. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/471>;
- ресурсы информационно-телекоммуникационной сети «Интернет»
- <http://www.fsvps.ru/> (сайт Россельхознадзора)
 - <https://центр-ветеринарии.рф> (сайт Центра ветеринарии)
 - <http://vetmedical.ru/> (специализированный ветеринарный портал)
 - <http://manvet.saratov.gov.ru/> (сайт Управления ветеринарии Саратовской области)
 - Министерство образования и науки Российской Федерации (<http://минобрнауки.рф>)
 - Федеральный портал "Российское образование" (<http://www.edu.ru>)
 - Федеральный центр информационно-образовательных ресурсов (<http://fcior.edu.ru>)
 - периодические издания
 - Журналы: «Ветеринария», «Животноводство», «Ветеринария сельскохозяйственных животных».
 - базы данных и поисковые системы
 - Rambler, Yandex, Google:
 - информационные технологии, используемые при осуществлении образовательного процесса:
 - информационно-справочные системы
 - Электронная библиотека СГАУ - <http://library.sgau.ru>;
 - Электронно-библиотечная система (ЭБС) - www.znaniium.com;
 - Электронно-библиотечная система (Издательство «Лань») - www.e.lanbook.com;

Электронно-библиотечная система IPRbooks - <http://www.iprbookshop.ru>;
Информационная система "Единое окно доступа к образовательным ресурсам"
(<http://window.edu.ru>)

СОДЕРЖАНИЕ

| | Стр. |
|--|------|
| Введение | 3 |
| Лекция 1. Введение в дисциплину «Ветеринарная микробиология и микология». Предмет и объекты изучения. История возникновения микробиологии. Основоположники микробиологии. Этапы ее развития | 4 |
| 1.1. Введение в дисциплину «Ветеринарная микробиология и микология». Предмет и объекты изучения. История возникновения микробиологии | 4 |
| 1.2. Основоположники микробиологии. Этапы ее развития | 5 |
| Лекция 2. Морфология и систематика микроорганизмов. | 8 |
| 2.1. Морфология бактерий | 8 |
| 2.2. Систематика бактерий. Общая характеристика, основы систематики в историческом аспекте и на современном этапе развития микробиологии. Обязательные и необязательные таксоны | 10 |
| Лекция 3. Систематика, морфология и размножение микроскопических грибов. | 14 |
| 3.1. Систематика и морфология микроскопических грибов | 14 |
| 3.2. Размножение микроскопических грибов | 16 |
| Лекция 4. Физиология микроорганизмов. | 20 |
| 4.1. Химический состав микробной клетки | 20 |
| 4.2. Понятие об обмене веществ, анаболизм и катаболизм | 21 |
| 4.3. Ферменты микроорганизмов | 22 |
| 4.4. Питание микроорганизмов | 23 |
| 4.5. Рост и размножение микроорганизмов | 26 |
| Лекция 4. Влияние факторов внешней среды на микроорганизмы. | 29 |
| 5.1. Влияние физических факторов. | 29 |
| 5.2. Влияние химических факторов. | 30 |
| 5.3. Влияние биологических факторов. Антибиотики. | 31 |
| 5.4. Использование факторов внешней среды для борьбы с микроорганизмами | 30 |
| Лекция № 6 Важнейшие биохимические процессы, вызываемые микроорганизмами. | 35 |
| 6.1. Круговорот углерода | 35 |
| 6.2. Круговорот азота | 38 |
| Лекция 7. Генетика микроорганизмов. ДНК бактерий, передача и реализация наследственной информации. Изменчивость и ее формы. Рекомбинация у бактерий. Плазмиды | 41 |
| 7.1. ДНК бактерий | 41 |
| 7.2. Передача и реализация наследственной информации | 42 |
| 7.3. Изменчивость, ее формы и механизмы | 43 |
| 7.4. Рекомбинация у бактерий | 44 |
| 7.5. Плазмиды | 45 |
| Лекция 8. Санитарная микробиология. | 48 |
| 8.1. Санитарная микробиология. Цели и задачи | 48 |
| 8.2. Роль почвы, воды и воздуха в распространении и сохранении опасных для животных возбудителей инфекционных болезней бактериальной и | 48 |

| | |
|---|-----|
| грибной природы | |
| 8.3. Санитарно-показательные микроорганизмы | 51 |
| Лекция №9. Микрофлора тела животных. | 54 |
| 9.1 Нормальная микрофлора тела животных | 54 |
| 9.2 Микробные биопленки | 55 |
| 9.3. Гнотобиотические животные | 57 |
| 9.4 Дисбактериозы, причины развития | 58 |
| Лекция 10. Инфекция и иммунитет | 61 |
| 10.1. Понятие об инфекции, инфекционном процессе и инфекционных болезнях, патогенность и вирулентность, факторы патогенности. | 61 |
| 10.2. Иммунитет и его виды | 67 |
| Лекция 11. Патогенные грамположительные кокки. Морфологические, культуральные и биохимические признаки возбудителей стафилококкозов и стрептококкозов. Методы диагностики болезней | 71 |
| 11.1. Морфологические, культуральные и биохимические признаки возбудителей стафилококкозов | 71 |
| 11.2. Морфологические, культуральные и биохимические признаки возбудителей стрептококкозов | 74 |
| Лекция 12. Возбудитель сибирской язвы. | 78 |
| 12.1 Морфологические, культуральные и биохимические свойства возбудителя. | 78 |
| 12.2 Диагностика. Профилактика. | 80 |
| 12.3 Исследование кожно-мехового сырья на наличие сибиреязвенного антигена | 81 |
| Лекция 13. Возбудители рожи свиней и листериоза. Морфологические, культуральные, биохимические свойства возбудителей. Диагностика. Профилактика | 83 |
| 13.1. Возбудитель рожи свиней | 83 |
| 13.2. Возбудитель листериоза | 85 |
| Лекция 14. Возбудители анаэробных инфекций (патогенные клостридии). Морфологические, культуральные, биохимические свойства возбудителей. Диагностика. Профилактика | 89 |
| 14.1 Нейротоксигенные клостридии | 89 |
| 14.2. Гистотоксические клостридии | 93 |
| 14.3. Кишечные клостридиозы | 98 |
| Лекция 15. Возбудители туберкулеза и паратуберкулеза. Виды патогенных микобактерий. Морфологические, культуральные, биохимические свойства возбудителей. Диагностика | 100 |
| 15.1 Возбудители туберкулеза и паратуберкулеза, виды патогенных микобактерий | 100 |
| 15.2. Морфологические и биологические свойства микобактерий | 101 |
| 15.3 Факторы патогенности, иммунитет | 102 |
| 15.4 Диагностика туберкулеза и паратуберкулеза | 102 |
| Лекция 16. Возбудители эшерихиоза, сальмонеллеза Морфологические, культуральные, биохимические свойства возбудителей. Диагностика. Профилактика | 105 |
| 16.1. Возбудитель колибактериоза | 105 |

| | |
|--|-----|
| 16.2. Возбудитель сальмонеллеза | 108 |
| Лекция 17. Возбудители пастереллеза и иерсиниозов. Виды патогенных пастерелл и иерсиний. Морфологические, культуральные, биохимические свойства возбудителей. Диагностика. Профилактика | 112 |
| 17.1. Возбудители пастереллеза | 112 |
| 17.2. Иерсинии — возбудители псевдотуберкулеза (<i>Y. pseudotuberculosis</i>) и кишечного иерсиниоза (<i>Y. enterocolitica</i>) | 113 |
| 17.3. Возбудители кампилобактериоза | 116 |
| Лекция 18. Возбудители бруцеллеза. Виды бруцелл. Морфологические, культуральные, биохимические свойства возбудителей. Серодиагностика. Профилактика | 120 |
| 18.1. Возбудители бруцеллеза. Виды бруцелл, морфологические и биологические свойства | 120 |
| 18.2. Лабораторная диагностика | 121 |
| Лекция 19. Возбудители микозов. Возбудители кожных, подкожных и системных микозов. Оппортунистические микозы. Морфологические, культуральные, биохимические свойства возбудителей. Диагностика. Профилактика. Микотоксикозы | 124 |
| 19.1. Глубокие микозы | 125 |
| 19.2. Подкожные микозы | 126 |
| 19.3. Дерматомикозы | 128 |
| 19.4. Оппортунистические микозы | 129 |
| 19.5. Возбудители псевдомикозов | 131 |
| 19.6. Микотоксикозы | 132 |
| Лекция 20. Возбудители некоторых особо опасных антропоознозных болезней. Возбудители сапа, лептоспироза, туляремии, хламидиоза. Морфологические, культуральные, биохимические свойства возбудителей. Диагностика. Профилактика. | 137 |
| 20.1. Возбудитель сапа. | 137 |
| 20.2. Возбудитель лептоспироза | 140 |
| 20.3. Возбудитель туляремии | 142 |
| 20.4. Возбудитель хламидиозов | 145 |
| Библиографический список | 149 |
| Содержание | 151 |

