

МИКРОФЛОРА КИШЕЧНИКА СОБАК: физиологическое значение, возрастная динамика, дисбактериозы, коррекция

Часть 1

Нормальная микрофлора кишечника собак

В.В.Субботин, Н.В.Данилевская

Основное внимание в борьбе с инфекционными заболеваниями, как правило, уделяют возбудителям и часто забывают о том, что в ряде случаев индигенная микрофлора хозяина способна блокировать инфекционный процесс. Но иногда она же становится причиной как соматических заболеваний организма животного, так и источником возникновения секундарных инфекций.

В последнее время значительно возрос интерес к индигенной (собственной) микрофлоре сельскохозяйственных и домашних животных и способам её коррекции. Вопрос о возможности существования животных и человека в отсутствие микроорганизмов впервые был поставлен Луи Пастером (цитируется по 10). Согласно современным представлениям, в естественной среде обитания необходим симбиоз макроорганизма с заселяющей его микрофлорой. Безмикробные животные (и растения) могут жить и развиваться только в условиях искусственной изоляции (стерильной окружающей среде).

Нормальная микрофлора животного и человека постоянно персистирует в организме здорового хозяина и взаимодействует с ним по принципу симбиоза.

Индигенная флора представлена микробиоценозами (определенными сообществами микроорганизмов), формирующимися в естественных нишах (биотопах) физиологических систем макроорганизма (пищеварительный тракт, респираторный и уrogenитальный аппараты, кожный покров и т.д.) контактирующих с внешней средой. В любом микробиоценозе различают характерную для данного вида (облигатную, резидентную) и случайную (факультативную, временную, транзиторную) микрофлору.

В каждом из биотопов формируются собственные, отличные от других, условия для существования и взаимодействия населяющих их микроорганизмов. Поэтому видовой и количественный состав флоры в разных биоценозах имеют существенные различия. В связи с этим существуют такие понятия, как микроэкология кишечника, кожного покрова, гениталий, верхних дыхательных путей, полости рта и т. д.

В живом организме содержится огромное количество клеток микроорганизмов–симбионтов (достигает 10^{14}). Их видовое разнообразие (свыше 400 видов) обеспечивают участие нормальной микрофлоры в самых разнообразных физиологических функциях макроорганизма (13, 14).

Одной из важнейших функций нормальной микрофлоры является обеспечение колонизационной резистентности (КР) по отношению как к посторонним микроорганизмам, проникающим в организм хозяина, так и ограничение размножения ее отдельных представителей вне мест свойственного им обитания. При снижении КР происходит нарушение равновесия качественного и количественного состава индигенной флоры. За счет увеличения роста отдельных популяций микроорганизмов происходит колонизация последними кожного и слизистых покровов макроорганизма, а также отмечают расширение

ареала распространения представителей оппортунистической (условно-патогенной) микрофлоры, включая аэробы и анаэробы, их транслокацию во внутренние органы. Это ведёт к гнойно-воспалительным процессам, септицемии. Усиливается передача факторов антибиотикорезистентности и патогенности между сообществами бактерий (1, 8, 16).

Наиболее сложные микробиоценозы млекопитающих - микрофлора толстого отдела кишечника, рта и носоглотки. Качественный и количественный состав микрофлоры поверхности кожи, а также слизистых полости носа, гениталий и т.д. более скуден. Поэтому индигенная микрофлора кишечника оказывает существенное влияние на состояние микробиоценозов остальных биотопов живого организма.

Состав нормальной флоры желудочно-кишечного тракта здоровой взрослой собаки (табл. 1) стабилен и при отсутствии существенных изменений в условиях кормления, содержания, стрессовых ситуаций, а также заболеваний с применением фармакологических препаратов колеблется незначительно. Из-за высокой кислотности микробиоценоз желудка достаточно скуден. Микроорганизмы, способные сохранять свою жизнедеятельность в кислой среде и в присутствии пепсина (ацидофильная палочка и другие лактобактерии, энтерококки, грибы, бациллы, сарцины), локализуются преимущественно в пилорической его части. Удельное количество микроорганизмов двенадцатиперстной и тощей кишок колеблется в пределах 10^2 - 10^5 бактерий в 1 г их содержимого. Торможение их роста в этой части тонкого отдела кишечника обеспечивается за счет более кислой среды, которая поддерживается за счет поступления химуса (содержимого желудка), и выброса желчных кислот. Активная перистальтика, секреторные иммуноглобулины (IgA, IgE), и ферменты непосредственно участвуют в регуляции численности микроорганизмов. Основные обитатели – лактобактерии, энтерококки, энтеробактерии, стептококки, по своему количественному представительству незначительно уступают бифидобактериям, иногда встречаются кандиды. Аналогичная ситуация наблюдается и в краниальной части подвздошной кишки, тогда как в каудальной микробиоценоз значительно разнообразнее и часто включает в свой состав виды, преимущественно обитающие в толстом отделе кишечника (бактероиды, клостридии, зубактерии, фузобактерии и др.). Удельное содержание микроорганизмов в данном участке может достигать 10^7 в 1 г содержимого кишечника. Следует сказать, что микробиоценоз индигенной флоры толстого отдела кишечника в сравнении с тонким значительно преобладает как в качественном так и количественном отношении. Кроме упомянутых в таблице 1, здесь практически всегда имеются представители вейолонелл, пептококков, пептострептококков, актиномицетов, псевдомонасов, алкалигенесов и других родов (11). По мере продвижения к прямой кишке удельное содержание бактерий растет (10^{10} - 10^{12} микробных клеток в 1г содержимого). В зависимости от влажности фекалий процентное содержание бактериальной массы по отношению к общему весу исследуемого материала колеблется в пределах 15-30%.

В данной статье в первую очередь предлагаются результаты исследования микрoэкологии кишечника у собак в возрасте 2-7 лет, где особое внимание уделяли нормальной микрофлоре.

В ближайших номерах мы планируем представить материалы по возрастной динамике индигенной флоры кишечника, также будут рассмотрены причины развития дисбактериозов (снижения КР) и способы их коррекции.

Полученные результаты показывают, что основу нормальной микрофлоры кишечника у собак, как и у других животных, составляют неспорообразующие облигатные анаэробные микроорганизмы. Соотношение представителей анаэробной-аэробной флоры кишечника в норме составляет примерно 1000:1 соответственно.

Важнейшими представителями резидентной флоры желудочно-кишечного тракта являются бифидо- и лактобактерии, бактероиды, энтерококки, эшерихии, дрожжеподобные грибы (9).

Бифидобактерии

Большую часть нормофлоры кишечника (от 60 до 90% и более) у здоровых собак, как и у других моногастричных животных составляют бифидобактерии (рис. 1). В норме из 1 г содержимого толстого отдела кишечника собак (в зависимости от возраста, типа кормления и др.) их высевают до 10^{12} .

Следует обратить внимание ветеринарных врачей на то, что микроскопическое исследование фекалий при использовании специальных методов окраски мазков может дать лишь ориентировочное представление о соотношении основных групп популяций микроорганизмов (присутствие кокков, грамположительных и грамотрицательных бактерий, грибов и т. д.). Наличие либо отсутствие бифидофлоры этим методом установить нельзя, т.к. она имеет морфологические сходства с целым рядом других бактерий – облигатных микроорганизмов кишечника (приложение 1).

Определение количественного содержания бифидофлоры осуществляют методом посева последовательных десятикратных разведений исследуемого материала на элективные (специальные) полужидкие питательные среды, которые разливают высоким (не менее двух третей высоты пробирки) столбиком и перед посевом регенерируют (прогревают). Подвергаемый бактериологическому анализу материал вносят аккуратно в нижнюю часть пробирки, содержимое которой слегка перемешивают, соблюдая при этом условия анаэробнозиса, и далее инкубируют при оптимальной температуре от 1 до 3 дней. Такого рода исследование требует высокой квалификации и практических навыков бактериолога.

Учитывая доминирующее положение бифидофлоры в кишечнике здоровых особей, а также данные клинических и микробиологических исследований, многие авторы пришли к выводу о том, что представители рода бифидобактерий – основная таксономическая группа микрофлоры желудочно-кишечного тракта, которая является показателем здоровья (4). Действительно, при снижении КР бифидофлора первой исчезает из желудочно-кишечного тракта. Преобладание же данных микроорганизмов в кишечнике, как правило, препятствует размножению патогенных и условно-патогенных бактерий, нормализуя микробиоценоз в целом.

Антагонистическая активность бифидобактерий к патогенам, относящимся к энтеробактериям (эшерихии, клебсиеллы, сальмонеллы, протей, шигеллы и т.д.), коккам (стрепто-, стафилококки), вибрионам, кампилобактериям, клостридиям, и другим микроорганизмам обеспечивается за счет образования в процессе ферментации углеводов ацетата и лактата, продукции летучих жирных кислот (ЛЖК), лизоцимоподобных и других веществ, обладающих антибактериальной активностью, а также способности подавлять токсинообразование либо разрушать токсины патогенных бактерий и т.д. Особо следует подчеркнуть их участие в симбиозе с макроорганизмом на уровне пристеночного пищеварения, что определяется хорошо выраженными адгезивными свойствами. Это является одним из главных элементов конкурентоспособности в освоении пищевой ниши по отношению к другим представителям индигенной флоры и патогенам.

Бифидобактерии непосредственно принимают участие в регуляции иммунных функций макроорганизма. Они стимулируют пролиферацию клеток лимфоидной ткани, усиливают фагоцитарную активность макрофагов, моноцитов и гранулоцитов, усиливают специфический гуморальный иммунитет, синтез цитокинов (выработку гамма-интерферона, IL-6, TNF, ALPHA), а также стимулируют иммунные механизмы на уровне клеток, включая противоопухолевую защиту (7, 15).

Как и другие представители индигенной флоры бифидобактерии способны вызывать деконъюгацию желчных кислот. Они также активно участвуют в водно-солевом, белковом, жировом, нуклеотидном, витаминном обменах, поддержании pH и анаэробнозиса в кишечнике. Они синтезируют такие аминокислоты, как лизин, аргинин, валин, метионин, лейцин,

тирозин, а также глутаминовую кислоту. На долю незаменимых аминокислот приходится около 40% от общего их количества. Внутриклеточно бифидобактерии аккумулируют витамины В₁, В₂, В₆, В₁₂, С, никотиновую, фолиевую кислоты и биотин, а также продуцируют в культуральную среду В₆, В₁₂ и фолиевую кислоту. При дефиците представителей данного рода снижается синтез эндогенного образования витамина К, что ведёт к нарушению процессов свёртывания крови.

Изложенная кратко характеристика бифидобактерий свидетельствует о том, что они как одна из разновидностей нормальной флоры макроорганизма доминируют не только в количественном, но и в качественном (физиологическом) отношении.

В проведенной нами видовой идентификации бифидобактерий, выделенных из фекалий собак, показано, что преобладающим оказался вид *B. adolescentis* (41,7% штаммов), вторым по численности был вид *B. globosum* (16,7%), третьим – *B. termophilum* (8,3%). Ни в одном из случаев не удалось выделить от собак бифидобактерии вида *B. bifidum*, характерные для кишечника человека и используемые для изготовления пробиотических препаратов в гуманитарной медицине.

Лактобактерии

Второй по численности, а очевидно и по значимости группой резидентной флоры желудочно-кишечного тракта собак являются молочнокислые бактерии, представители рода *Lactobacterium* (приложение 2). По данным наших исследований количество лактобактерий у здоровых собак составляет 10^6 - 10^9 /г содержимого толстого отдела кишечника (рис.1). При снижении КР (дисбактериозах) лактобактерии высеваются в значительно меньшем количестве или их не удается обнаружить вовсе (рис. 2).

Молочнокислые бактерии как облигатные представители желудочно-кишечного тракта принимают активное участие в происходящих в нем процессах. Они ферментируют большое количество углеводов и спиртов, отдельные представители данного рода вызывают гидролиз крахмала и синтезируют белки.

Антагонистическая активность молочнокислых бактерий в отношении гнилостной, патогенной и условно-патогенной микрофлоры обусловлена их способностью синтезировать многочисленные антибиотические вещества.

Некоторые из них относятся к низкомолекулярными белкам. Их классифицировали как бактериоцины, сходные по механизму своего действия с антибиотиками, но отличающиеся от них малой активностью в отношении близкородственных видов микроорганизмов (приложение 3). Характеристика физико-химических свойств бактериоцинов ацидофильных бактерий позволила объединить их под термином «Лактацин В». Кроме того, лактобактерии продуцируют антимикробные вещества, получившие название лантабиотиков. Они менее чувствительны к действию амилаз и протеиназ и содержат аминокислоты, обычно не присутствующие в бактериоцинах.

Помимо бактериоцинов и лантабиотиков лактобактерии синтезируют не идентифицированные вещества, обладающие бактериоциноподобным эффектом. Эти низкомолекулярные органические соединения небелковой природы проявляют свою активность в присутствии кислоты или перекиси водорода. Они сдерживают рост и развитие псевдомонад, сальмонелл, шигелл, стрептококков, стафилококков, а также анаэробных бактерий, в том числе клостридий, бифидобактерий и бактериоидов.

Одним из важнейших продуктов метаболизма молочнокислых бактерий является перекись водорода. Способность к ее продукции определяется генетически детерминированным признаком и не зависит от основной среды и контакта с кислородом. Ингибирующий эффект перекиси водорода в кишечнике имеет более важное значение для сдерживания численности представителей аэробной флоры, чем действие продуцируемых ею органических кислот.

Бактерицидный эффект перекиси водорода связан с ее сильным окислительным действием на бактериальные клетки и разрушением основной молекулярной структуры клеточных белков. Лактобактерии играют важную роль в становлении иммунитета у новорожденных, имеющих низкую активность клеточного и гуморального иммунитета и низкую фагоцитарную активность мононуклеарных макрофагов. Усиление фагоцитарной активности макрофагов, захват и катаболизм ими антигенов наблюдают при пероральном, подкожном и интраперитонеальном введении живых лактобактерий, супернатантов, убитых культур или фрагментов их стенок. В условиях *in vitro* и *in vivo* молочнокислые бактерии стимулируют продукцию интерферонов и интерлейкинов (3, 7).

Помимо перечисленных свойств, обеспечивающих иммуностимулирующий и антагонистический в отношении патогенов эффект, лактобактериям присущи и другие важнейшие физиологические функции. Они активно участвуют в метаболизме углеводов, белков, липидов, нуклеиновых кислот. Им, также как и бифидобактериям, принадлежит важная роль в регуляции водно-солевого обмена, поддержании pH и анаэробнозиса в кишечнике, деконъюгации желчных кислот, синтезе витаминов, аминокислот и других биологически активных соединений.

Большая часть изученных нами штаммов лактобактерий, выделенных из фекалий собак, была отнесена к виду *L.acidophilum* (56%), вторым по численности был вид *L.plantarum* (16%), третьим – *L.helveticum* (12%).

Эшерихии

Это сапрофиты, которые в норме входят в состав резидентной флоры кишечника. Они располагаются беспорядочно и равномерно по всей полости кишечника, локализуются преимущественно в просвете и лишь отчасти примыкают к эпителию его ворсинок.

Так же, как бифидо- и лактобактерии, эшерихии активно участвуют в ферментативных процессах в кишечнике, образуя при этом органические кислоты, витамины и другие биологически активные вещества. В 1905 году Н. Conrad установил, что в результате жизнедеятельности эшерихий в питательной среде накапливаются бактерицидные вещества, препятствующие росту других бактерий. В настоящее время известно, что эшерихии продуцируют как *in vitro*, так и *in vivo* до 24 типов таких веществ, названных колицинами.

Возможно, кишечную флору следует именовать не сапрофитной, а условно- патогенной, так как в сравнении с другими представителями, относящимся к данной категории микроорганизмов, она является наиболее агрессивной: эшерихии числе первых заселяют организм после рождения и их чаще других обнаруживают в крови животных при снижении естественного иммунитета, например, после облучения. Так, по данным авторов (2, 5), более чем в 50 % случаев они являются причиной септицемии у облученных животных. Следует помнить, что огромное число эшерихий - патогены с постоянно выраженной высокой вирулентностью (приложение 4).

В различных отделах кишечника здоровых собак количество эшерихий колеблется в пределах от 10^2 до 10^9 колониеобразующих единиц на 1 г исследуемого материала. Собственные исследования, проведенные на здоровых собаках, показывают, что количество эшерихий колеблется в пределах 10^6 - 10^9 в одном грамме фецес.

Бактероиды

В состав нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта, а также ротовой полости, верхних дыхательных путей, мочеполовых органов, входят бактериоиды. Род *Bacteroides* включает более 20 видов, большинство из которых выделяется из организма человека и животных.

В условиях кислой среды бактериоиды проявляют антагонистическую активность по отношению к сальмонеллам, эшерихиям, другим микроорганизмам и, по-видимому, играют

существенную роль в резистентности организма к инфекциям. Однако результаты исследований последних лет свидетельствуют об их участии в этиологии многих патологических процессов: энтеритов, некротических гепатитов, перитонитов, менингитов и т. д. Изучение патогенности представителей данного рода на животных свидетельствует об их синергизме в развитии инфекционных процессов, который отмечают в отношении боррелий, микоплазм, стрептококков, стафилококков, пастерелл, а у человека - холерного вибриона (6).

В 1 г содержимого толстого отдела кишечника здоровых собак их количество колеблется в пределах 10^7 - 10^{10} .

Энтерококки

Широко распространены в природе фекальные стрептококки или энтерококки. Их обнаруживают в кишечнике и фекалиях человека и животных, а также в почве и воде.

Энтерококки являются облигатными представителями нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта и некоторые из них (главным образом *Ent. faecium*) включают в состав пробиотических препаратов для нормализации кишечной микрофлоры. Антагонистические функции этих микроорганизмов связаны, главным образом, с их кислотообразующими свойствами и способностью продуцировать бактериоцины.

В тоже время энтерококки – это факультативно-анаэробные условно-патогенные микроорганизмы, способные вызывать у животных и человека гастроэнтериты, пневмонии, маститы, эндокардиты, менингиты, септицемию и другие заболевания. Как и свойственно всем условно-патогенным микроорганизмам, их отрицательное воздействие проявляется у особей со снижением общей резистентности.

Содержание представителей данного рода микроорганизмов у здоровых собак составляет 10^4 - 10^8 /г фекалий (собственные исследования).

Клостридии

В организме животных и человека обнаруживается до 35 видов клостридий. Количественный показатель отдельных видов (*Cl. clostridiforme*, *Cl. innocuum*, *Cl. ramosum*) может достигать 10^8 - 10^9 /г фекалий (11).

По данным собственных исследований, частота выделения клостридий из кишечника собак колебалась в пределах 75-100% случаев. Их удельное содержание в различных отделах составляло от 0 до 10^4 /г исследуемого материала.

Характерной особенностью клостридий является их способность к сапрофитному существованию в почве и желудочно-кишечном тракте человека и животных. Роль представителей данного рода для макроорганизма (исключая патогенные виды) изучена недостаточно. Имеются данные литературы, свидетельствующие о синтезе клостридиями витаминов: никотиновой, фолиевой, пантотеновой кислот и рибофлавина (12). Поэтому естественно предполагать, что клостридии также участвуют в поддержании кишечного нормобиоза своего хозяина. Более того, некоторые авторы считают, что клостридии, в особенности тех видов, количество которых может достигать больших величин, являются наиболее древней регуляторной системой микроэкологии человека и животных, обеспечивающей гомеостатические взаимоотношения между хозяином и его микрофлорой.

Грибы рода Candida

Дрожжеподобные грибы рода *Candida* составляют самостоятельный род и насчитывают более 80 видов. Они входят в состав нормальной флоры, заселяющей слизистые оболочки респираторного аппарата и желудочно-кишечного тракта, а также половых органов и кожи. Из фекалий здоровых собак мы высеивали их в количествах до 10^3 , редко - 10^4 /г. Грибы рода

Candida также относятся к условно-патогенным микроорганизмам, и все факторы, снижающие общую или колонизационную резистентность макроорганизма и угнетающие неспецифическую иммунную защиту, создают условия для активизации их роста и развития специфического заболевания - кандидамикоза. В экспериментах на обезьянах и собаках показано, что эти микроорганизмы могут проникать в организм хозяина через слизистые оболочки кишечного тракта и поступать в кровь. Существенное значение в патогенезе заболевания имеет эндотоксин, вызывающий поражение паренхиматозных органов.

Перечисленные выше группы микроорганизмов составляют основную часть более или менее изученной для желудочно-кишечного тракта животных резидентной микрофлоры. При этом следует отметить тот факт, что только бифидо- и лактобактерии являются микроорганизмами, участие которых в патологических процессах (как прямое, так и косвенное) на сегодняшний день не установлено.

Кроме резидентной микрофлоры в желудочно-кишечном тракте спорадически встречаются и другие микроорганизмы, именуемые транзитными, которые чаще всего высеваются при заболеваниях желудочно-кишечного тракта животных, хотя и среди них встречаются сапрофитные виды микробов. В первую очередь это клебсиеллы, псевдомонасы, протей, стафилококки, спирохеты, цитробактеры, энтеробактеры, плесневые грибы и другие.

На количественное разнообразие резидентной микрофлоры собак, на численное соотношение в микробиоценозе того или иного биотопа резидентной и транзитной микрофлоры основное влияние оказывают возраст, тип кормления и различные факторы внешней среды, включая применение лекарственных препаратов. Пока в микробиоценозах преобладают представители нормальной микрофлоры, сохраняется КР и здоровье макроорганизма в целом. Если же внешние воздействия (химиотерапевтические препараты, пестициды и другие яды, стрессы, вирулентные микроорганизмы и т.д.) по своей интенсивности превышают компенсаторные механизмы экологической системы «макроорганизм – его нормальная микрофлора», то в микробиоценозах начинает преобладать транзитная микрофлора, что ведет к развитию локальных инфекционных процессов, либо даже генерализованной инфекции и другим осложнениям.

Таким образом, очевидно, что животный организм и населяющая его микрофлора являются взаимозависимыми и сосуществующими частями единой системы. С экологических позиций взаимодействие между макро- и микроорганизмами является частным случаем универсально распространенного в живом мире симбиоза с его различными формами (комменсализм, мутуализм, паразитизм, хищничество и т.п.).

Исходя из выше сказанного следует, что взаимодействие между нормальной микрофлорой и организмом хозяина преимущественно осуществляется на уровне мутуализма.

Микроорганизмы кишечника, являясь частью нормофлоры, одновременно представляют собой сложную саморегулирующуюся открытую систему, где их различные популяции имеют многообразные взаимоотношения как на уровне их сообществ, так и с организмом хозяина. Наиболее заметную роль играют их конкурентно-антагонистические свойства, что, в основном, и определяет нормальное функционирование единой экологической системы: животный организм - окружающая его среда.

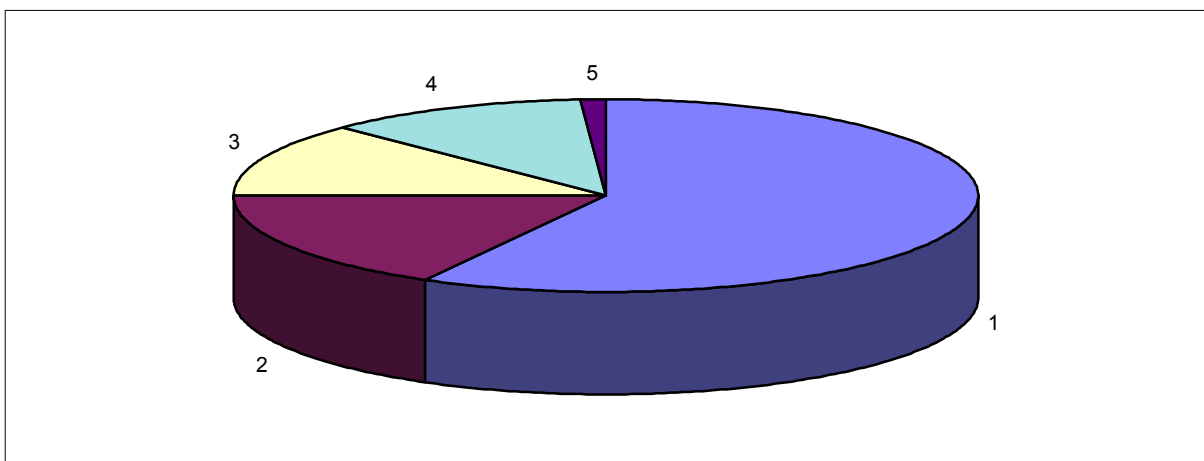


Рисунок 1.

Состав микрофлоры фекалий взрослых здоровых собак:

- 1 – бифидобактерии (59,15%);
- 2 – лактобактерии (16,89%);
- 3 – энтерококки (12,39%);
- 4 – энтеробактерии (11,55%);
- 5 – прочие микроорганизмы (0,02%)

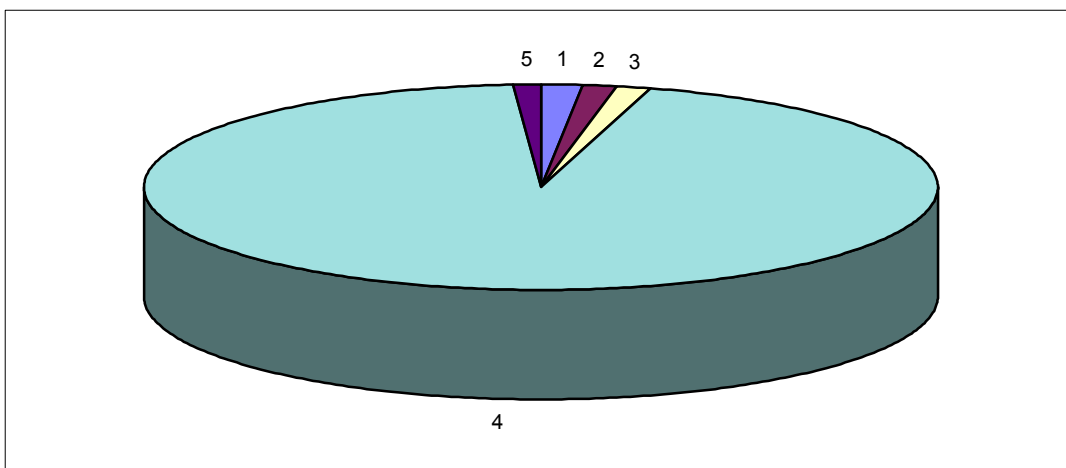


Рисунок 2

Состав микрофлоры фекалий собак с клиникой диареи

- 1 – бифидобактерии (0,61%);
- 2 – лактобактерии (0,45%);
- 3 – энтерококки (0,42%);
- 4 – энтеробактерии (98,49%);
- 5 – прочие микроорганизмы (0,03%)

Таблица 1

Качественный и количественный состав микрофлоры различных отделов желудочно-кишечного тракта здоровых собак 2-7 летнего возраста

Наименование бактерий	Среднее количество бактерий в 1г содержимого			
	Желудок	Тощая кишка	Подвздошная кишка	Толстая кишка
Общее количество	0-10 ³	0-10 ⁵	10 ² -10 ⁷	10 ¹⁰ -10 ¹²
Бифидобактерии	редко	0-10 ⁴	10 ³ -10 ⁸	10 ⁷ -10 ¹²
Лактобактерии	0-10 ³	0-10 ⁴	10 ³ -10 ⁶	10 ⁶ -10 ⁹
Энтеробактерии	редко	0-10 ³	10 ² -10 ⁵	10 ⁶ -10 ⁹
Энтерококки	редко	0-10 ³	10 ² -10 ⁶	10 ⁴ -10 ⁸
Бактероиды	редко	0-10 ³	10 ³ -10 ⁷	10 ⁷ -10 ¹⁰
Клостридии	редко	редко	0-10 ³	10-10 ⁴
Бациллы	0-10 ²	0-10 ²	10 ² -10 ⁴	10 ² -10 ⁴
Стрептококки	0-10 ²	0-10 ³	10 ² -10 ⁵	10 ³ -10 ⁶
Стафилококки	0-10 ²	0-10 ²	10 ² -10 ⁴	10 ² -10 ⁵
Грибы	0-10 ²	0-10 ²	10-10 ⁴	10 ² -10 ⁴

Приложение 1

Бифидобактерии - грамположительные неспорообразующие каталазоотрицательные бактерии, не разжижающие желатину, не образующие газ, не восстанавливающие нитраты в нитриты, не выделяющие сероводород и дающие рост в высоком столбике среды Блаурокка в виде «комет», «гвоздиков» или «крошек».

Род *Bifidobacterium* насчитывает 24 вида, различающихся между собой по биохимическим, физиологическим и серологическим признакам, а также по морфологии, строению клеточной стенки, гомологии ДНК/ДНК и виду животных, у которых они обитают.

Впервые бифидобактерии были выделены в 1900 году Г. Тиссье из фекалий новорожденных детей. Из-за способности ветвиться их назвали *Bacillus bifidus communis* (от латинского *bifidus* - расщепленный, раздвоенный)

По способности образовывать булабовидные формы и сбраживать пентозы бифидобактерии близки к коринебактериям, а по способности ветвиться - к актиномицетам. Из-за варибельности морфологии они имеют сходство и с другими микроорганизмами (нокардиями, битурибактериями).

Бифидобактерии - облигатные анаэробы, получающие энергию сбраживанием субстрата. Спектр сбраживаемых ими сахаров довольно широк. Все они утилизируют глюкозу, фруктозу, большинство - сахарозу, мальтозу, раффинозу, лактозу. Виды, выделенные от пчел, лактозу не сбраживают, но используют широко распространенный в природе глюконат. Цитраты в качестве источника энергии не используют. Основными продуктами метаболизма углеводов являются уксусная и L (+)- молочная кислоты с

небольшой примесью муравьиной, пропионовой и янтарной кислот, а также этанола. Аммиак утилизируют как источник азота. Содержание в ДНК гуанина + цитозина от 55 до 67 моль %.

Приложение 2.

Лактобактерии – аэротолерантные молочнокислые микроорганизмы палочковидной формы, положительно окрашивающиеся по Граму, неспорообразующие, неподвижные (за некоторым исключением), не образующие каталазу, не разжижающие желатину, не восстанавливающие нитраты в нитриты.

Обладают слабыми протеолитическими свойствами. Основным продуктом ферментации углеводов является молочная кислота в форме L- или D-изомеров. Гетероферментативные лактобактерии, в отличие от гомоферментативных, образуют при этом еще уксусную, муравьиную кислоты, этанол, CO₂ и некоторые другие продукты.

Род *Lactobacterium* включает 44 основных вида и еще 23 вида, которые описаны, но таксономическое положение их точно не установлено. Диапазон содержания в ДНК гуанина+цитозина вдвое шире, чем это принято для большинства родов бактерий, и составляет от 32 до 53 моль%.

Приложение 3

Механизм антибактериального действия бактериоцинов связан с их фиксацией на специфических бактериальных рецепторах, что ведет к ограничению синтеза белков в клетке, изменению строения ее стенки. В результате этого нарушаются процессы транспорта через клеточную мембрану различных катионов, снижается синтез ДНК. В ряде случаев бактериоцины вызывают лизис клеточных стенок.

Помимо бактериостатического действия бактериоцины обладают противоопухолевым эффектом, так как рецепторы клеточных стенок опухолевых клеток имеют большую чувствительность к взаимодействию с бактериоцинами, чем рецепторы нормальных клеток.

Приложение 4.

Эшерихии как вид имеют большое количество серовариантов, отличающихся друг от друга по антигенной структуре, биохимической активности, условиям обитания (желудочно-кишечный тракт человека и животных, вода, почва, другие объекты внешней среды) и степени патогенности.

Энтеропатогенные эшерихии вызывают колибактериоз молодняка животных. Возможны и парентеральные формы эшерихиозов, протекающие как сепсис, менингит, энцефалит, миелит, пиелонефрит, цистит, перитонит и т. д. Разнообразие клинических признаков инфекции вызываемые возбудителями данного рода связывают не только с возрастом и состоянием резистентности макроорганизма, но и с вирулентными свойствами бактерий. В частности со способностью продуцировать термостабильный и термолабильный токсины, вероцитотоксин и другие токсические субстанции. Особый интерес представляют внехромосомные генетические детерминанты - плазмиды, которые насчитываются в большом количестве у представителей данного рода и относительно легко передаются как внутри популяций на уровне одного вида так и энтеробактерий других видов при конъюгации через секс-пили.

Кроме секс-пилей, патогенные штаммы эшерихий образуют пили, обуславливающие адгезивность этих бактерий - способность прилипать к другим клеткам, в том числе и к энтероцитам. Такие пили у эшерихий связываются с поверхностными антигенами белковой природы K 88, K 99, 987 P, F 41, F 18.

Литература:

1. Белокрысенко С.С. Этиологическое значение, экология и генетические механизмы формирования госпитальных штаммов бактерий семейства Enterobacteriaceae.// Автореф.дис.докт.мед.наук. - М., 1993.
2. Клемпарская Н.Н. Эндогенная инфекция в патогенезе лучевой болезни. - М.: Медицина, 1964.
3. Ленцнер А.А., Ленцнер Х.П., Микельсаар М.Э. и др. Лактофлора пищеварительного тракта как один из защитных механизмов организма и определение ее количественной характеристики.// В кн.: Иммунологические аспекты инфекционной патологии. - Таллин, 1981.
4. Лянная А.М., Интизаров М.М., Донских Е.Е. Биологические и экологические особенности микробов рода Bifidobacterium.// В кн.: Бифидобактерии и их использование в клинике, медицинской промышленности и сельском хозяйстве. - М., 1986.
5. Микельсаар М.Э., Тюри М.Э., Вытрищак Л.В., Ленцнер А.А. Транслокация микроорганизмов из желудочно-кишечного тракта в кровяное русло у облученных конвенциональных и ассоциированных безмикробных мышей.// В кн.: Теоретические и практические проблемы гнотобиологии. - М.: Агропромиздат, 1986.
6. Панасюк Д.И. Закономерности взаимоотношений сочленов паразитоценоза. В кн.: Паразитоценозы и ассоциативные болезни. - М., Колос, 1984.
7. Панин А.Н., Малик Н.И., Малик Е.В. Иммунобиология и кишечная микрофлора. - М.: Аграрная наука, ИК «Родник», 1998.
8. Покровский В.И., Рубцов И.В. Инфекционный процесс.// В кн.: Иммунология инфекционного процесса. / Под ред. В. И. Покровского и др. - М., 1994.
9. Субботин В.В. Биотехнология пробиотика лактобифадола (бифацидобактерина) и его лечебно-профилактическая эффективность.// Дис. докт.вет.наук. - М., 1999.
10. Чахава О.В. Гнотобиология - учение о микрофлоре организма хозяина.// В кн.: Теоретические и практические проблемы гнотобиологии. - М.: Агропромиздат, 1986.
11. Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. т.1. Микрофлора человека и животных и ее функции. - М.: Грантъ, 1998.
12. Тарасевич А.В., Летучих В. Экология и некоторые биологические свойства клостридий, обнаруживаемых в организме человека.// В кн.: Медицинские аспекты микробной экологии. / Под ред. Б.А.Шендерова. - М., 1994.
13. Borriello S.P. Microbial flora of the gastrointestinal tract. – In: Microbial Metabolism in the Digestive Tract (ed M.J.Hill), 1986.
14. Luckey T.D. Overview of gastrointestinal microecology.// Die Nahrung, 1987, vol. 31, № 5-6.
15. Moreau M.C. The modulating effects of fermented milks on the host's immune responses.// Abstr. XXI Intern. Congress Microb. Ecol. Disease. - Paris, 1996.
16. Van der Waaij D. Evidence of immunoregulation of the composition of intestinal microflora and its practical consequences.// Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 1988.