



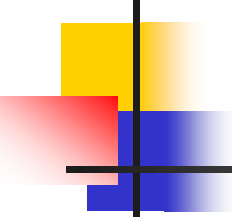
АЗЕРБАЙДЖАНСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА МЕДИЦИНСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ И ИММУНОЛОГИИ

ЛЕКЦИЯ 4

**Физиология микроорганизмов.
Метаболизм, питание, дыхание и размножение. Принципы
культивации микроорганизмов.**

ФАКУЛЬТЕТ: *Лечебно-профилактический*
Предмет: *Медицинская микробиология - 1*

План лекции



1. Особенности физиологии, метаболизма, питания, дыхания и размножения микроорганизмов.

- Понятие о физиологии микроорганизмов
- Химический состав микроорганизмов
- Метаболизм микроорганизмов (анаболизм и катаболизм)
- Типы питания микроорганизмов, источники углерода, энергии, электронов, азота, факторы роста.
- Дифференциация микроорганизмов по типам питания (аутоотрофы, гетеротрофы, фототрофы, хемотротрофы, литотрофы, органотрофы, аминокислототрофы, аминокислотогетеротрофы, прототрофы, ауксотрофы, сапрофиты и паразиты). Механизм питания бактерий: пассивная диффузия, облегченная диффузия, активный транспорт, транслокация.
- Энергетический метаболизм. Дыхание бактерий, типы дыхания (облигатные аэробы, микроаэрофилы, факультативные анаэробы, капнофилы, облигатные анаэробы).
- Продукты жизнедеятельности микроорганизмов, ферменты, пигменты.
- Биологическое значение бактериальных ферментов. Конститутивные и индуктивные ферменты. Эндо- и экзоферменты. Метаболические ферменты и ферменты агрессии. Роль ферментов в обмене веществ и патогенезе заболеваний. Значение определения ферментов в идентификации микроорганизмов.
- Размножение бактерий. Фазы размножения.
- Размножение спирохет, микоплазм и актиномицетов.
- Размножение риккетсий, хламидий и вирусов. Методы индикации и идентификации вирусов.
- Принципы культивации микроорганизмов.
- Питательные среды, их типы: основные (простые), специальные, селективные, дифференциально-диагностические, консервирующие (транспортные). Основные требования, предъявляемые к питательным средам.

Понятие о физиологии микроорганизмов

Физиология микробов – раздел микробиологии, изучающий жизнедеятельность микробов, процессы их питания, обмена, дыхания, роста, размножения, закономерности взаимодействия с окружающей средой.

Значение физиологии микроорганизмов

- Физиологические и биохимические особенности микроорганизмов положены в основу их систематики.
- Важны для изучения механизмов патогенного действия, культивирования, дифференцировки и идентификации отдельных микроорганизмов.
- Для разработки биотехнологии производства вакцин, антибиотиков и других биологически активных продуктов.
- Для понимания патогенеза, постановки микробиологического диагноза, проведения лечения и профилактики инфекционных заболеваний, регуляции взаимоотношений человека с окружающей средой и т.д.

ФИЗИОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

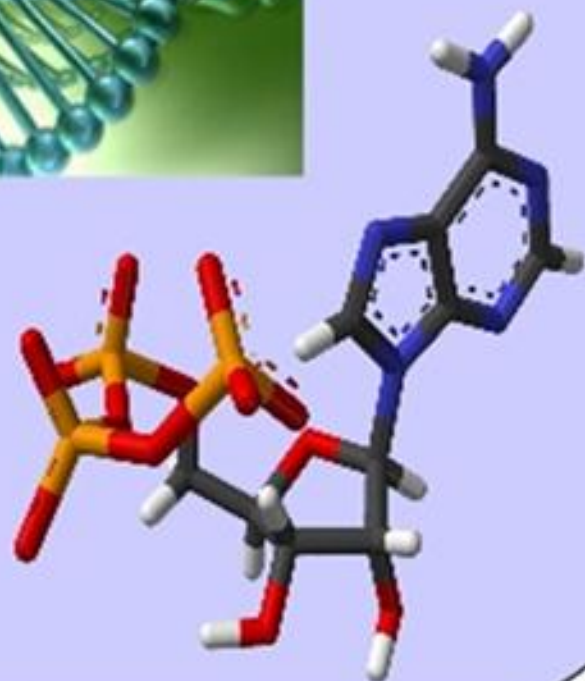
- Физиология изучает жизненные функции микроорганизмов: *питание, дыхание, рост и размножение*. В основе физиологических функций лежит непрерывный обмен веществ (метаболизм).
- *Сущность обмена веществ* составляют два противоположных и вместе с тем взаимосвязанных процесса: ассимиляция (анаболизм) и диссимиляция (катаболизм).

Метаболизм

- Термин **метаболизм** или **обмен веществ** используется для обозначения совокупности **биохимических реакций**, происходящих в организме
- В ходе этих реакций бактерии, с одной стороны, генерируют энергию, а с другой используют эту энергию для того, чтобы синтезировать разнообразные вещества
- Микроорганизмы синтезируют вещества, которые входят в состав клеток, в том числе образуют биополимеры, составляющие основу структурных элементов клеток, а также синтезируют разнообразные вещества, выделяющиеся в окружающую среду
- Кроме того, в ходе метаболизма микроорганизмы вызывают химические превращения разнообразных веществ в окружающей среде

Метаболизм – вся совокупность химических реакций в клетке

- Метаболизм подчиняется принципу биохимического единства А. Клейвера: «В биохимическом отношении все живые существа на земле сходны»



Катаболизм

Метаболизм

Анаболизм

Реакции,
приводящие к
расщеплению
и окислению
веществ с
получением
энергии

Амфиболизм
промежуточные
реакции
перестройки
одних веществ в
другие

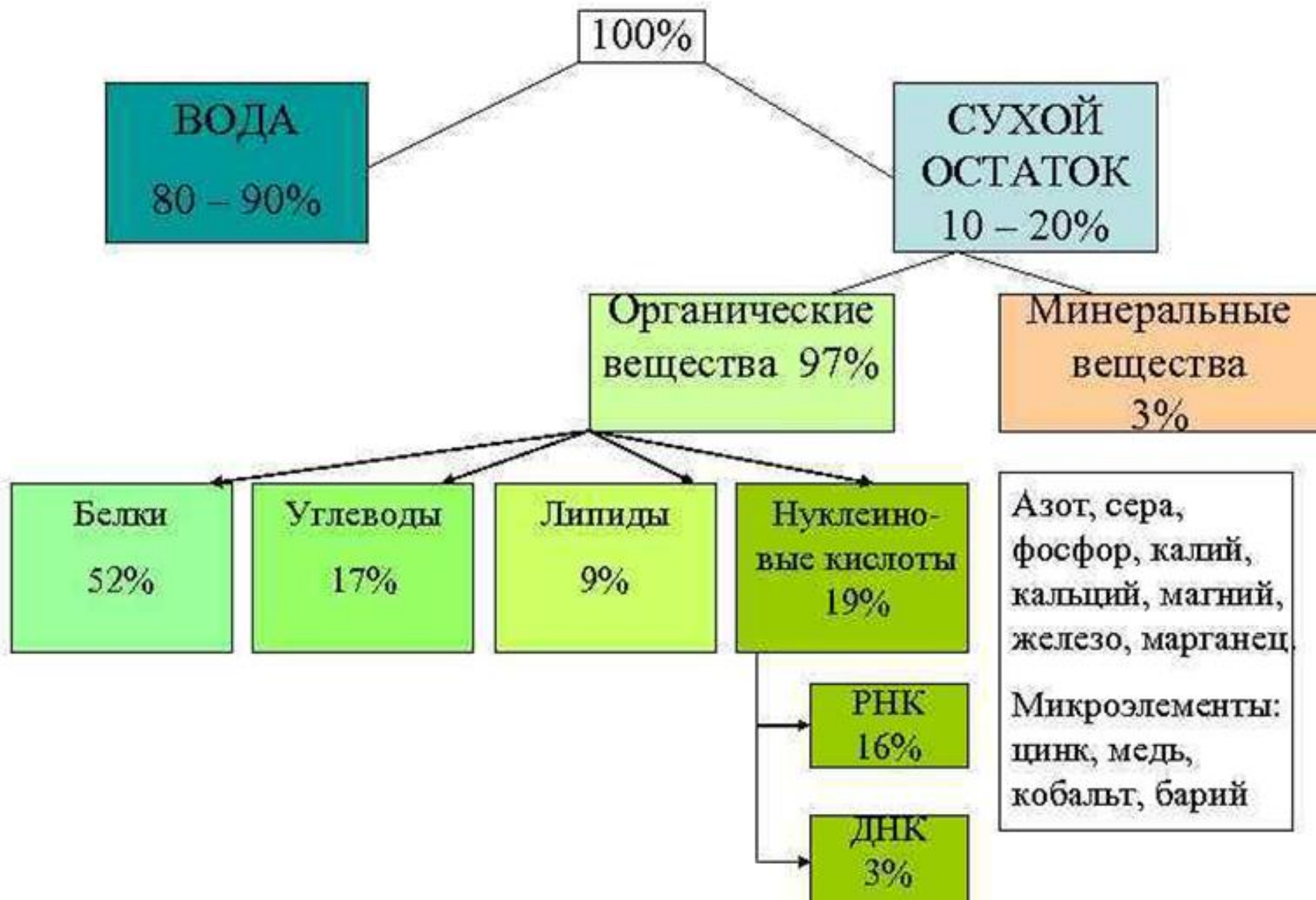
Пути,
приводящие к
синтезу
основных
сложных
веществ

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ МИКРООРГАНИЗМОВ

Состав веществ микроорганизмов мало отличается от химического состава тела животных и растений. Важнейшими компонентами клетки являются белки, нуклеиновые кислоты, липиды.

Потребность микроорганизмов в питательных веществах определяется в основном элементарным составом их клеток

Химический состав бактериальной клетки



Химический состав микробов

- **Вода** является основным по содержанию компонентом бактериальной клетки (до 80—90%).
- **Белки** составляют 40—80% сухой массы бактерий, большая часть которых представляет собой сложные белки — нуклеопротеиды, хромопротеиды.
- **Нуклеиновые кислоты: ДНК и РНК**
- **Углеводы** в бактериальной клетке находятся в виде простых веществ (моно- и дисахариды) и комплексных соединений.
- **Липиды** являются необходимыми компонентами цитоплазматической мембраны и клеточной стенки. Колебания содержания липидов в бактериях очень велики — от 1,5 до 40% — и связаны с видовой принадлежностью.
- **Минеральные вещества** — фосфор, калий, магний, сера, железо, кальций, йод, цинк, молибден и др. Общее содержание минеральных веществ составляет от 2 до 30% сухой массы бактериальной клетки.

Метаболизм

№3

(или обмен веществ и энергии)



АНАБОЛИЗМ

*Процесс, в ходе которого бактериальная клетка получает из окружающей среды компоненты, необходимые для построения ее биополимеров (органовидов), называется **питанием**.*

*Бактериальные клетки не имеют специальных органов питания, т. е. являются **голофитными**.*

Питание микроорганизмов

- *Это процесс, в ходе которого бактериальная клетка получает из окружающей среды компоненты, необходимые для построения ее органоидов*

Химические элементы микробной клетки

```
graph TD; A[Химические элементы микробной клетки] --- B[Углерод 45-55 %]; A --- C[Азот 8-15%]; A --- D[кислород 30%]; A --- E[Водород 8%];
```

Углерод 45-55 %

Азот 8-15%

кислород 30%

Водород 8%

Типы питания бактерий

По источникам С для питания микроорганизмы делятся

а) Аутотрофы — используют для построения своих клеток CO_2 и другие неорганические соединения (серобактерии, железобактерии, нитрифицирующие бактерии)

б) Гетеротрофы — питаются за счет готовых органических соединений. Получают углерод из гексоз, спиртов, аминокислот, органических кислот.

Сапрофиты питаются отмершими органическими веществами.

Типы питания бактерий

По источнику энергии среди бактерий различают

Фототрофы (т.е. фотосинтезирующие бактерии) – сине-зеленые водоросли

Хемотрофы – бактерии, нуждающиеся в химических источниках энергии

Типы питания бактерий

В зависимости от окисляемого субстрата, называемого донором электронов или водорода, микроорганизмы делят

Литотрофы – используют в качестве доноров водорода неорганические соединения

Органотрофы – используют в качестве доноров водорода органические соединения

Классификация бактерий по типам питания



Типы питания бактерии

Тип питания	Источник энергии	Донор электронов	Источник углерода	Представители
Хемолитоавтотрофия	окислительно-восстановительные реакции	неорганические вещества	CO ₂	нитрифицирующие, тионовые, водородные бактерии, железобактерии
Хемолитогетеротрофия	- // - - // -	- // - - // -	органические вещества	метанобразующие, сульфатредуцирующие бактерии
Хемоорганавтотрофия	- // - - // -	органические вещества	CO ₂	факультативные метилотрофные бактерии
Хемоорганогетеротрофия	- // - - // -	- // - - // -	органические вещества	большинство бактерий (энтеробактерии, молочнокислые бактерии, маслянокислые бактерии и др.)
Фотолитоавтотрофия	солнечный свет	неорганические вещества	CO ₂	некоторые виды пурпурных и зелёных бактерий, цианобактерий
Фотолитогетеротрофия	- // - - // -	- // - - // -	органические вещества	некоторые виды пурпурных и зелёных бактерий
Фотоорганавтотрофия	- // - - // -	органические вещества	CO ₂	некоторые виды пурпурных бактерий
Фотоорганогетеротрофия	- // - - // -	- // - - // -	органические вещества	некоторые виды пурпурных и зелёных бактерий, цианобактерий, галобактерий

По отношению к факторам роста

- **Факторы роста** — вещества, которые организм не может синтезировать самостоятельно из данного источника веществ и энергии.
- Это готовые вещества: аминокислоты, пурины, пиримидины, витамины

Классификация	Факторы роста	Примеры
Прототрофы	Не нуждаются	
Ауксотрофы	Нуждаются	

По способности усваивать азот

микроорганизмы делятся также на две группы: *аминоавтотрофы* и *аминогетеротрофы*. **Аминоавтотрофы** для синтеза белка клетки используют молекулярный азот воздуха (клубеньковые бактерии, азотобактер) или усваивают его из аммонийных солей. **Аминогетеротрофы** получают азот из органических соединений — аминокислот, сложных белков. К ним относят все патогенные микроорганизмы и большинство сапрофитов.



Процесс питания микроорганизмов имеет ряд особенностей:

1. Поступление питательных веществ в микробную клетку происходит через всю ее поверхность.
 2. Микробная клетка обладает исключительной быстротой метаболических реакций;
 3. Микроорганизмы способны довольно быстро адаптироваться к изменяющимся условиям среды обитания.
- Основным регулятором и селективно проницаемым барьером является цитоплазматическая мембрана.
 - Питательные вещества могут проникать в цитоплазму микробных клеток только в виде небольших молекул и в растворенном виде.
 - *Сложные органические вещества* (белки, полисахариды и др.) предварительно подвергаются воздействию ферментов-гидролаз, выделяемых микробной клеткой, и после этого становятся доступными для использования.

Ферменты бактерий

Все метаболические процессы протекающие в микроорганизмах являются ферментозависимыми.

Набор ферментов конкретных микроорганизмов определяется их генетической информацией.



Ферменты бактерий

Питание БК – сложный процесс (ферментативные реакции), сочетающий катаболизм – приводящий к расщеплению крупных молекул на более простые соединения с высвобождением энергии, и анаболизм (конструктивный метаболизм) – приводящий к увеличению массы тела и потреблению энергии)

- *Эндоферменты и экзоферменты*
- *Конститутивные* (существуют и в отсутствии субстрата)
- *Индукцибельные* (образуются при наличии субстрата)
- *Репрессибельные* (их синтез подавляется при избытке субстрата)

Классы ферментов

- *Оксидоредуктазы* (окислительно-восстановительные);
- *Трансферазы* (перенос радикалов и атомов);
- *Гидролазы* (расщепляют вещества на более простые с присоединением воды);
- *Лиазы* (отщепляют от субстратов химические группы, не используя воду);
- *Изомеразы* (превращают субстрат в изомеры);
- *Лигазы-синтетазы* (ускоряют синтез сложных соединений).

Ферментативная активность – **«ПЕСТРЫЙ РЯД»**

Ферменты агрессии:

нейраминидаза -
фермент
распространения
патогена

IgA-протеаза,
обеспечивающая устойчивость
возбудителя к перевариванию
фагоцитами и действию
антител и др.

Фибринолизин
устраняет сгусток
фибрина для
дальнейшего
распространения
микроба по
организму

Гиалуронидаза
расщепляющая
гиалуроновую
кислоту

Лецитовителлаза
расщепляющая
липопротеид мембран
клеток хозяина



Механизм питания

Условно можно выделить четыре механизма проникновения питательных веществ в бактериальную клетку

Простая
диффузия

Облегченная
диффузия

Активный
транспорт

Перенос
(транслокация)

Механизмы питания

- Основным регулятором поступления веществ в бактериальную клетку является ЦПМ.

- Существует четыре механизма поступления веществ в клетку:

- - **пассивная диффузия** - по градиенту концентрации, не имеющая субстратной специфичности, энергонезатратная;

- - **облегченная диффузия** - по градиенту концентрации, субстратспецифичная, энергонезатратная, осуществляется при участии специализированных белков *пермеаз*;

- - **активный транспорт** - против градиента концентрации, субстратспецифичен (специальные связывающие белки в комплексе с пермеазами), энергозатратный (за счет АТФ);

- - **транслокация (перенос групп)** - против градиента концентрации, с помощью фосфотрансферазной системы, энергозатратна, вещества (нр. сахара) поступают в клетку в фосфорилированном виде

Механизм питания

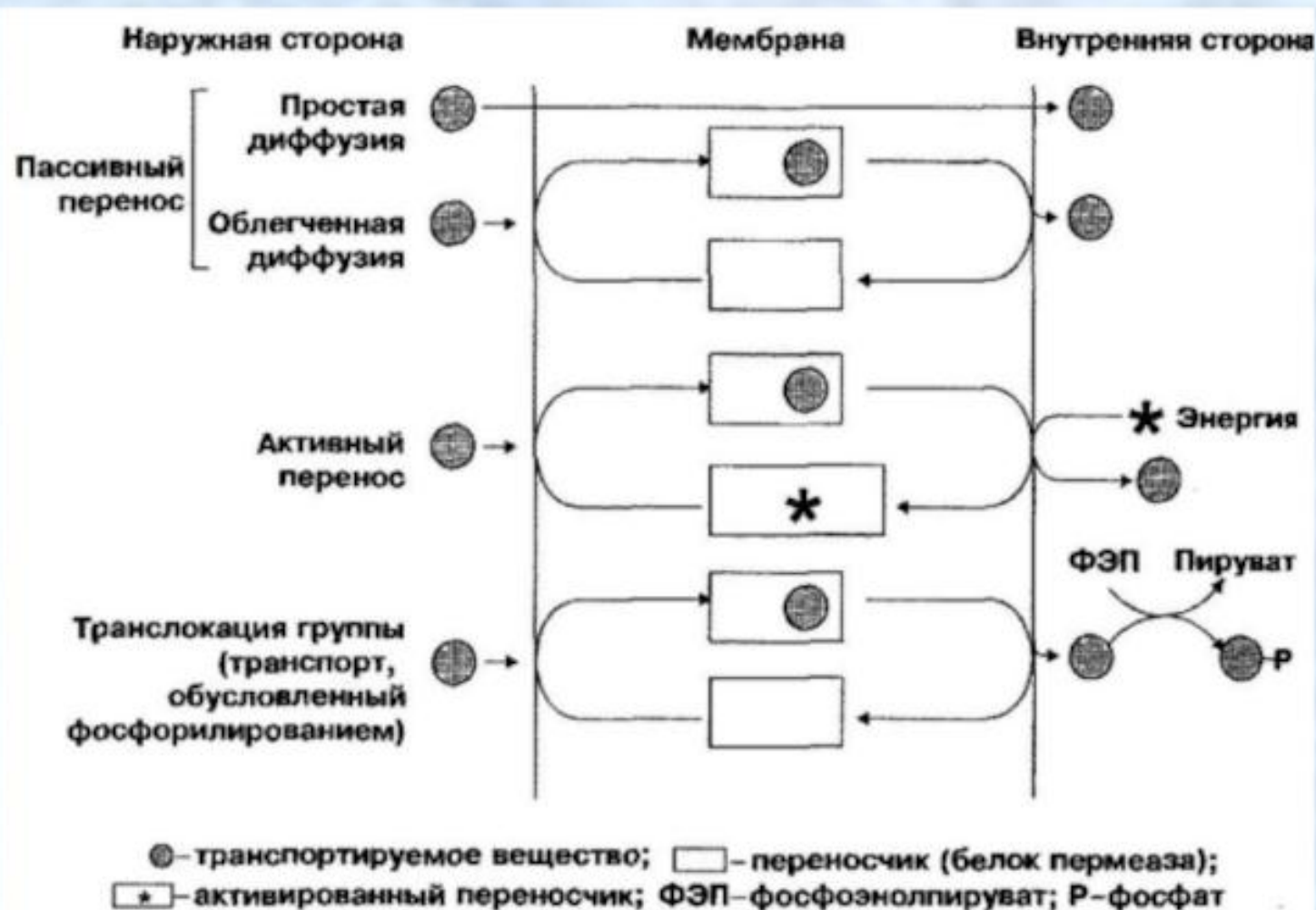


Рис. 4-6. Механизмы транспорта через цитоплазматическую мембрану.

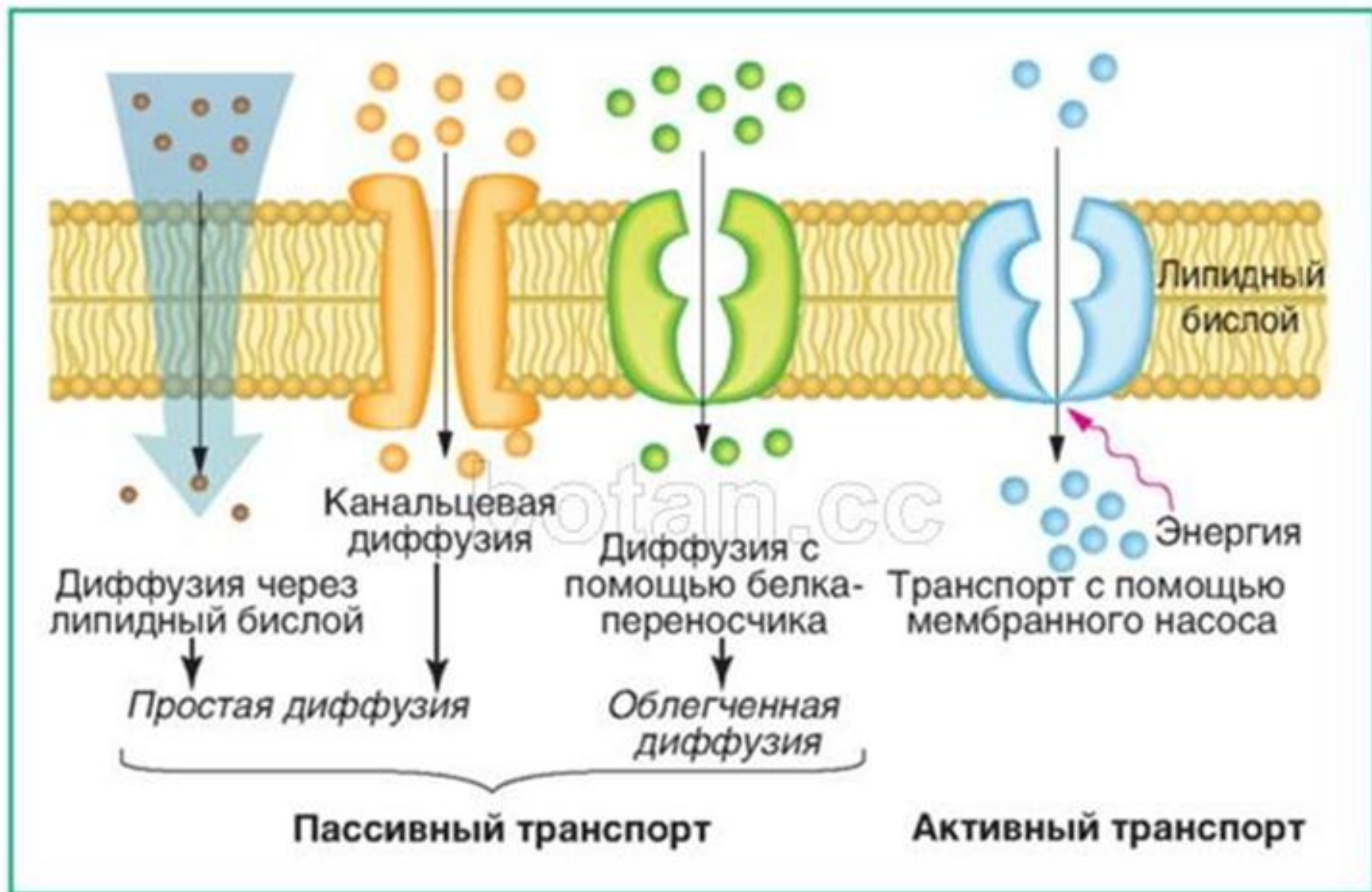
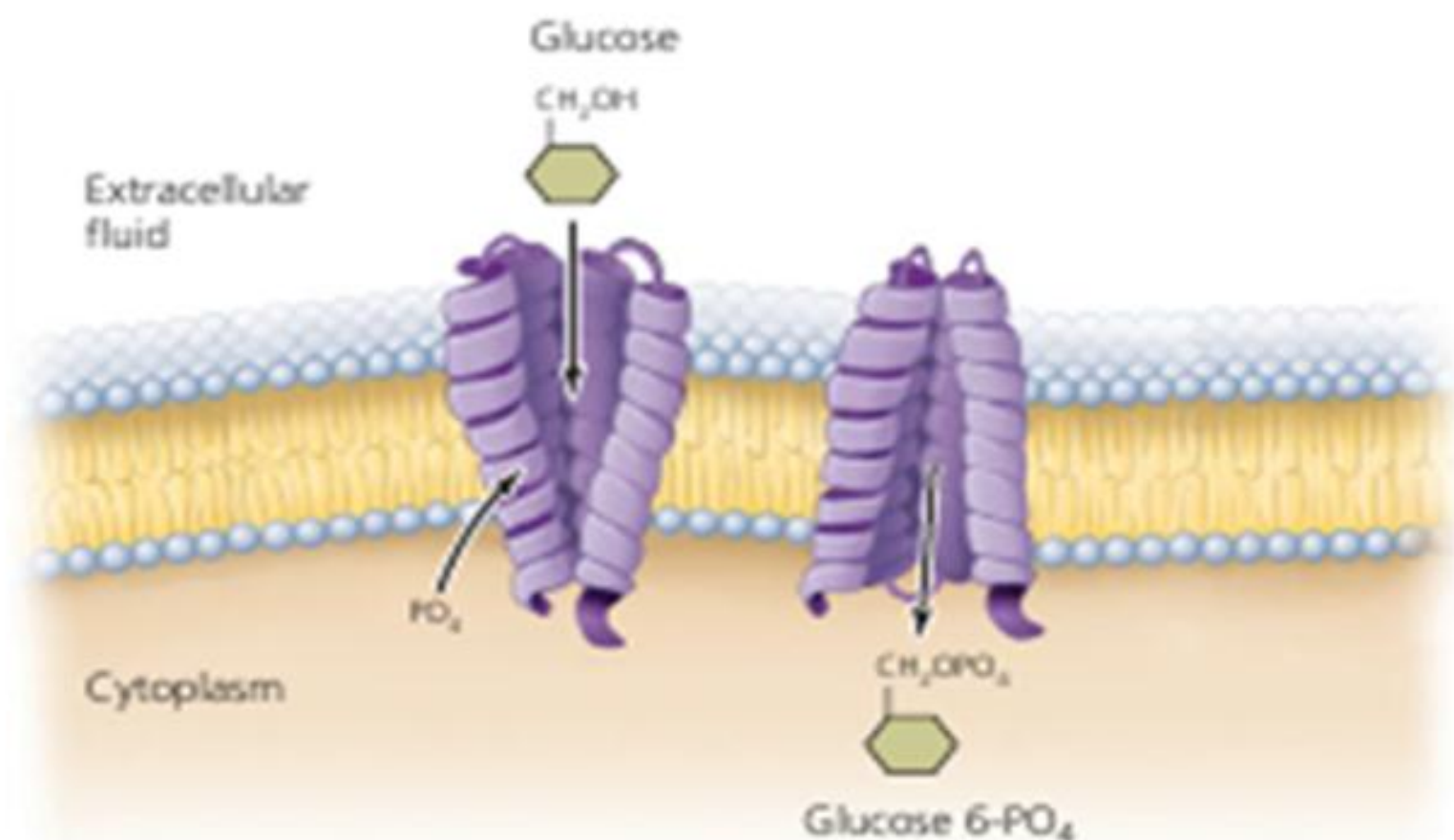


Рис. 31. Схема транспорта веществ через цитоплазматическую мембрану

Транслокация групп



▲ **Figure 3.22 Group translocation.** This process involves a chemical change in a substance as it is being transported. This figure depicts glucose being transported into a bacterial cell via group translocation.

Конструктивный метаболизм

Это поток реакций, в результате которых за счет поступающих извне веществ строится вещество клеток; это процесс связанный с поступлением свободной энергии в виде АТФ или других богатых энергией соединений

1. Биосинтез углеводов
2. Биосинтез липидов
3. Биосинтез аминокислот
4. Биосинтез моноклеотидов

Биосинтез углеводов.

- Микроорганизмы синтезируют моно-, олиго-, полисахариды и другие соединения, в состав которых входят углеводы.
- Автотрофы синтезируют глюкозу из CO_2 в цикле Кальвина.
- 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.
- В клетках прокариот, так же как и эукариот, широко развита способность к взаимопревращениям сахаров, которые происходят за счет их нуклеозиддифосфопроизводных. Олиго- и полисахариды синтезируются путем присоединения остатков сахаров от нуклеозиддисахаров к акцепторной молекуле.

Биосинтез липидов.

- Липиды микроорганизмов представлены жирными кислотами, фосфолипидами, воском, терпенами, каротиноидами, которые содержат длинноцепочечные насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты.
- Важную роль в биосинтезе жирных кислот у микроорганизмов играют так называемые ацетилпереносящие белки. В ходе биосинтеза к ним присоединяются ацильные фрагменты с образованием тиоэфиров.



Биосинтез аминокислот.

- Многие прокариоты, так же как эукариоты, 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.

глюкоза + фосфат

**метаболиты-
предшественники**

глюкозо-6Ф, фруктозо-Ф, пентозо-5Ф, эритрозо-4Ф, триозо-Ф, 3-Ф-глицерат, Ф-енолпируват, пируват, ацетил-КоА, α-кетоглутарат, сукцинил-КоА, оксалоацетат

**строительные
блоки**
примерное число
типов молекул

жирные
кислоты

сахара

аминокислоты

нуклеотиды

8

25

20

8

макромолекулы
число молекул
на клетку
процент по весу

липиды

липополи-
сахариды

пептидо-
гликан

белки

РНК

ДНК

22 000 000

1 200 000

1

2 360 000

270 000

2

9

3,4

2,5

55

20

3

**структуры
клетки**

мембрана капсула жгутики стенка цитозоль рибосомы нуклеоид

**запасные
вещества**

Поли-β-оксибутират

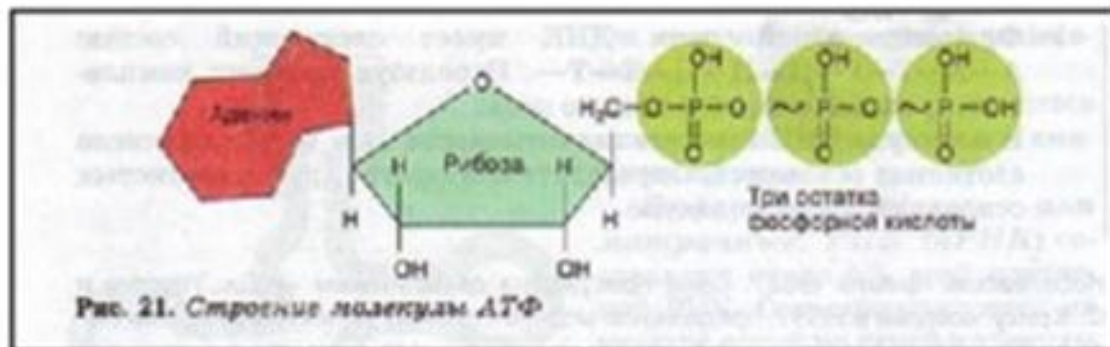
гликоген

(варьирует)

Общая
схема
анабо-
лизма
хемо-
органо-
гетеро-
трофа

Катаболизм = диссимиляция = энергетический обмен

- (греч. *katabole* — разрушение), или **диссимиляция** (лат. *dissimilatio* — разложение, отчуждение), — процессы расщепления органических веществ до более простых, которые протекают с выделением энергии.
- Энергия запасается в виде АТФ





Основные механизмы образования АТФ у прокариот



Окислительное
фосфо-
рилирование



Субстратное
фосфо-
рилирование



Получение энергии бактериями:

При окислительно-восстановительном процессе электроны переносятся от донора к акцептору. При этом выделяется энергия, синтезируется АТФ, а перенос электронов осуществляют дыхательные ферменты, формирующие т.называемую дыхательную цепь. Конечные продукты дыхания: углекислый газ и вода.

У бактерий выделяют 2 механизма дыхания:

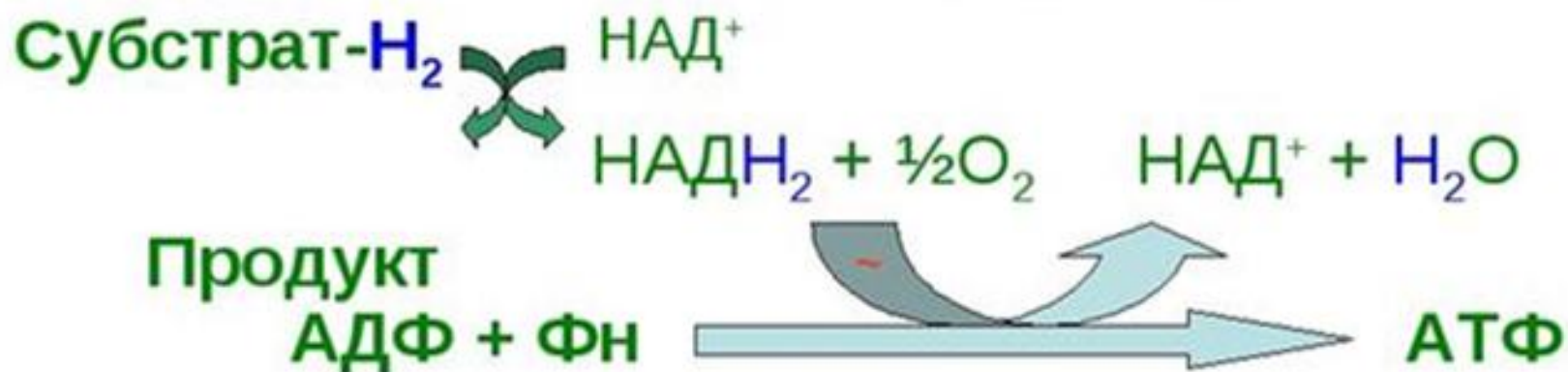
1. Аэробный механизм дыхания: акцептором электронов является кислород.
2. Анаэробный механизм: акцептором электронов являются неорганические соединения (нитраты, сульфаты).

Механизмы синтеза АТФ

1. Субстратное фосфорилирование



2. Окислительное фосфорилирование



Энергия электрохимического потенциала



Окислительный метаболизм, или дыхание

Дыхание – процесс получения энергии в реакциях окисления-восстановления, сопряженных с реакциями окислительного фосфорилирования, при котором донорами электронов могут быть органические и неорганические соединения, а акцептором – только неорганические соединения.

У бактерий, обладающих окислительным метаболизмом, акцептором электронов (водорода) является молекулярный кислород.

1. Аэробное дыхание

- Аэробное дыхание – это процесс, обратный «нормальному» фотосинтезу, т. е. органическое вещество (CH_2O) разлагается до CO_2 и H_2O :



Это полное окисление.

- Неполное окисление – осуществляют, например, уксуснокислые бактерии (р. *Acetobacter*). Они окисляют этанол до уксусной кислоты. Вредители производства пива и вина.

Аэробные организмы обладают особым аппаратом:

- **дыхательной (электронтранспортной) цепью**
- **ферментом АТФ-синтетазой.**
- **оба компонента у прокариот расположены в ЦПМ.**

Дыхательная цепь - это система переносчиков электронов и протонов от донора (окисляемого вещества) к акцептору (при аэробном дыхании - это O_2).

В состав дыхательной цепи входят:

- ✓ **Флавопротеиды** – вещества белковой природы – переносчики протонов.
- ✓ **Хиноны (у бактерий – убихинон)** – способны переносить, как протоны, так и электроны.
- ✓ **Цитохромы** – белки (содержащие геммы), переносчики электронов.
- ✓ **Железо-серные белки** – переносчики электронов.



Принципиальная схема цепи переноса электронов от первичного донора электронов (атома водорода) до конечного его акцептора O_2 выглядит так:

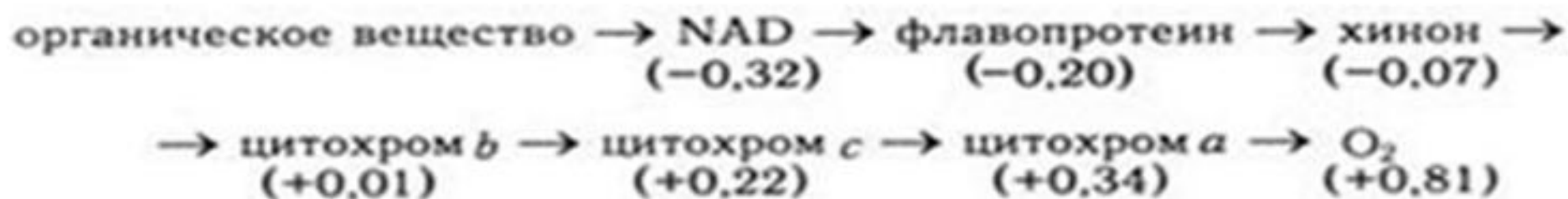
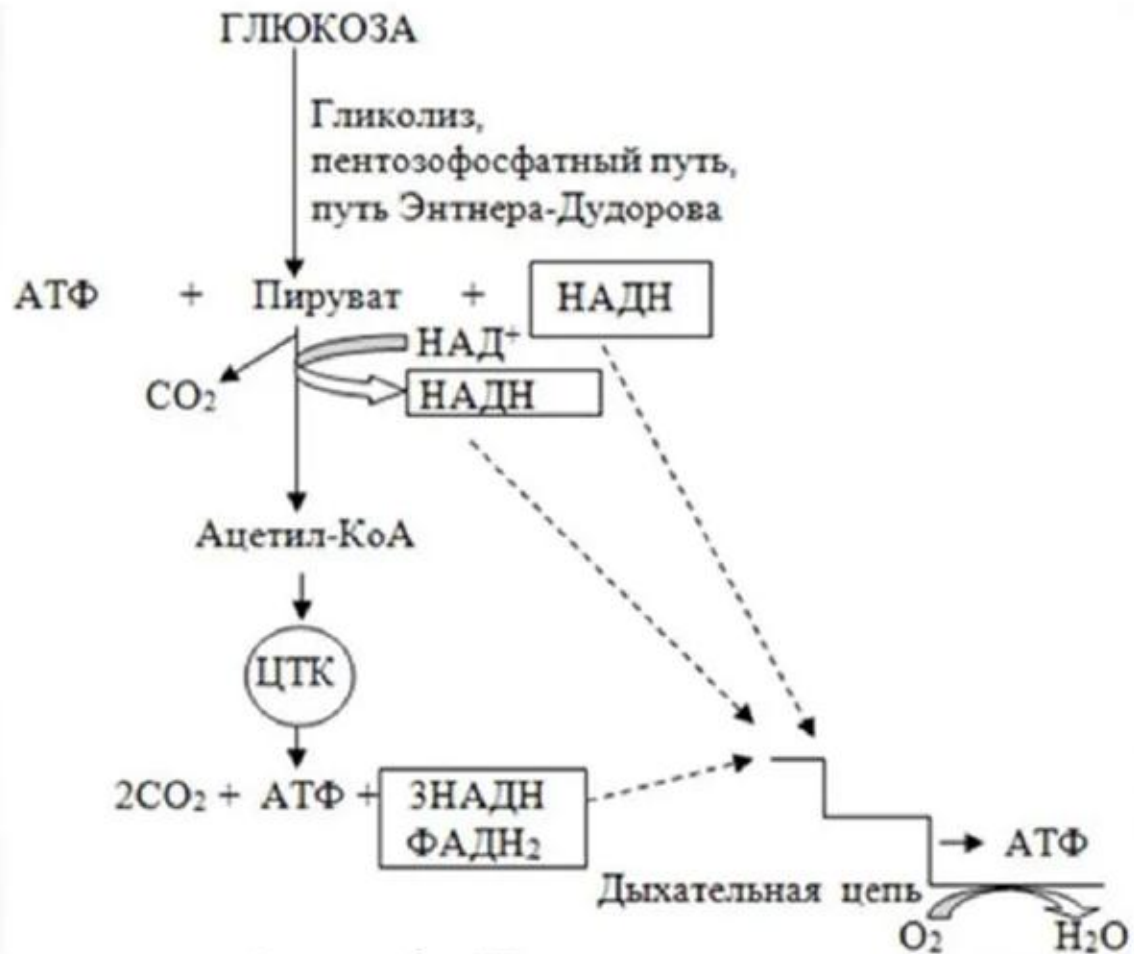


Схема аэробного дыхания

У аэробных хемоорганотрофных бактерий **окисление глюкозы** происходит в гликолитическом, окислительном пентозофосфатном пути или пути Энтнера-Дудорова, в результате образуется **пировиноградная кислота (пируват, ПВК)**.

ПВК подвергается **окислительному декарбоксилированию** (под действием *пируватдегидрогеназы*) с образованием **ацетил-КоА**, который служит исходным субстратом для цикла **трикарбоновых кислот (ЦТК) (цикла Кребса)**.

Электроны с восстановленных переносчиков - **$\text{НАД} \cdot \text{H}_2$, $\text{НАДФ} \cdot \text{H}_2$, $\text{ФАД} \cdot \text{H}_2$** , образующихся при функционировании ЦТК или окислительного пентозофосфатного цикла, поступают в **дыхательную цепь**.



Аэробный тип дыхания в энергетическом отношении является наиболее эффективным

Примером может служить окисление 1 моль глюкозы:

- в аэробных условиях этот процесс сопровождается выделением **688,5 ккал**
- в анаэробных условиях образуется **31,2 ккал**





Субстратное фосфорилирование

- 
- Ферментативное расщепление органических веществ без участия кислорода
 - Донорами и акцепторами электронов являются органические соединения (чаще гексозы)
 - Окисление субстрата происходит в циклических процессах (цикл трикарбоновых кислот, пентозофосфатный цикл)
- 

Брожение – наиболее примитивный способ получения энергии

- ❑ Донор и акцептор электронов – органические вещества, т.е. из субстрата в результате его анаэробного преобразования извлекается лишь незначительная доля той химической энергии, которая в нем содержится.
- ❑ Процесс протекает только в анаэробных условиях
- ❑ Энергия запасается в молекулах АТФ в реакциях *субстратного* фосфорилирования.
- ❑ Все реакции катализируются *растворимыми* ферментами.
- ❑ Энергетический выход: при окислении 1 молекулы глюкозы в среднем образуется 2 молекулы АТФ



Бродильный (ферментативный) метаболизм у бактерий

Бродильный метаболизм (субстратное фосфорилирование)-процесс получения энергии при котором отщепленный от субстрата водород переносится на органические соединения. В зависимости от конечного продукта различают следующие типы бродильного метаболизма:

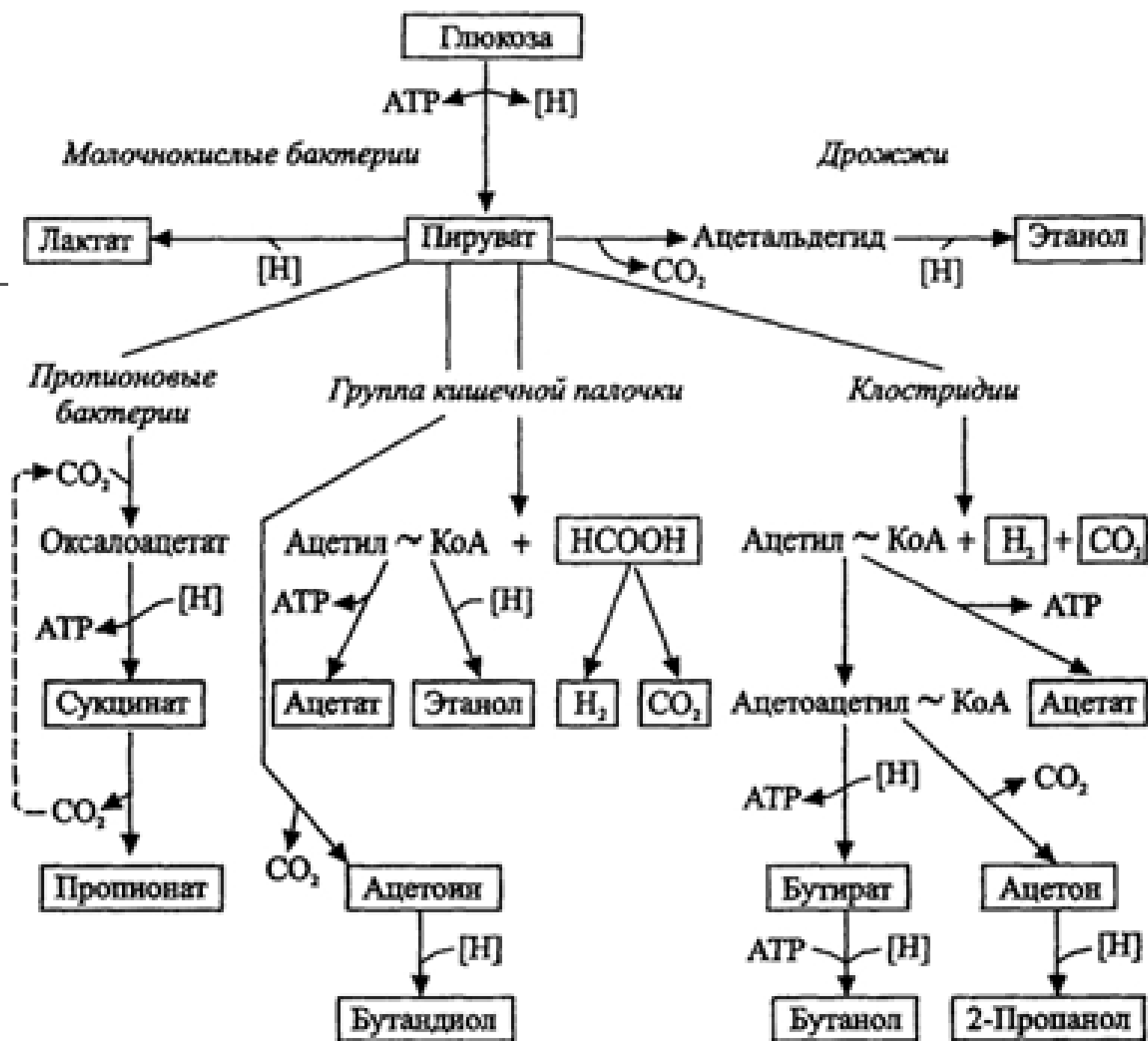
- Спиртовое брожение
- Молочнокислое брожение
- Маслянокислое брожение
- Муравьинокислое (смешанное) брожение



Стадии брожения

- Любое брожение проходит две стадии: первая (окисление) включает превращение глюкозы в пировиноградную кислоту, вторая (восстановление) — присоединение атомов водорода для восстановления пировиноградной кислоты.
- Сам процесс образования пировиноградной кислоты включает серию реакций, общих для брожения и аэробного дыхания.
- При ферментации субстратов в среде накапливаются конечные продукты (лактат, бутират, ацетон, 2-пропанол, этанол, ацетоин и др.)

Обобщающая схема важнейших типов брожения



1. <i>Спиртовое брожение</i>	дрожжи, грибы рода <i>Mucor</i>
2. <i>Молочнокислое брожение.</i>	
Типичное (гомоферментативное) молочнокислое брожение - процесс расщепления углеводов (лактозы, мальтозы, сахарозы, глюкозы и др.) с образованием молочной кислоты без побочных продуктов	Род <i>Streptococcus</i> , Отдельные представители рода <i>Lactobacillus</i>
Нетипичное (гетероферментативное) молочнокислое брожение происходит с образованием молочной кислоты, уксусной кислоты, этилового спирта и газообразных продуктов - углекислоты.	Отдельные представители рода <i>Lactobacillus</i>
3. <i>Пропионовокислое</i>	<i>Propionibacterium</i> spp. , <i>Veillonella alcalescens</i> , <i>Clostridium propionicum</i>
4. <i>Маслянокислое</i>	Бактерии рода <i>Clostridium</i>
5. <i>Муравьинокислое смешанного типа</i>	Семейство <i>Enterobacteriaceae</i>

Сравнение двух энергетических процессов

	Дыхание	Брожение
энергия	38 АТФ $28,8 \cdot 10^5$ Дж	2 АТФ $2 \cdot 10^5$ Дж
конечные продукты	CO_2 , H_2O	органические вещества
конечные акцепторы $\bar{e}$	O_2 или NO_3^- или SO_4^{2-}	органические вещества
Доноры $\bar{e}$	органические или неорганические в-ва	органические вещества
Метаболические блоки	ЭМП $\rightarrow$ ЦТК $\rightarrow$ ЭТЦ	ЭМП (гликолиз)

Классификация бактерий по типу дыхания

- Облигатные аэробы (синегнойная палочка)
 - Облигатные анаэробы (возбудитель ботулизма)
 - Факультативные анаэробы (стафилококки)
 - Аэротолерантные – (молочнокислые бактерии)
 - Микроаэрофилы – (некоторые возбудители газовой гангрены)
 - Капнические – (один из возбудителей бруцеллёза)
-

По отношению к кислороду (5 групп)

Классификация	Отношение к кислороду, особенности физиологии	Примеры
Облигатные аэробы	Растут только в присутствии кислорода. Имеют ферменты защиты от активных форм кислорода (СОД, каталазы, пероксидазы, цитохромоксидаза), кислородное дыхание	Псевдомонады
Микро-аэрофилы	Требуют 3–5% кислорода в воздухе, при большем содержании происходит инактивация ферментов и метаболических путей	Кампило-бактерии

По отношению к кислороду (5 групп)

Классификация	Отношение к кислороду, особенности биохимии	Примеры
Факультативные анаэробы	Растут как в присутствии кислорода, так и в анаэробных условиях	Стафилококки, Кишечная палочка
Облигатные анаэробы	Развиваются при полном отсутствии кислорода	Клостридии, бактероиды
Аэро-толерантная форма	Анаэробный тип, имеющий защиту от активных форм кислорода (пример: избыток ионов Mn^{2+})	Стрептококки, Лактобактерии

1. Рост и размножение бактерий

- Рост бактерий — **увеличение бактериальной клетки в размерах** без увеличения числа особей в популяции.
- Размножение бактерий — процесс, обеспечивающий **увеличение числа особей в популяции**. Бактерии характеризуются **высокой скоростью размножения**.
- Рост всегда предшествует размножению. Бактерии размножаются **поперечным бинарным делением**, при котором из одной материнской клетки образуются **две одинаковые дочерние**.

Способы размножения бактерий

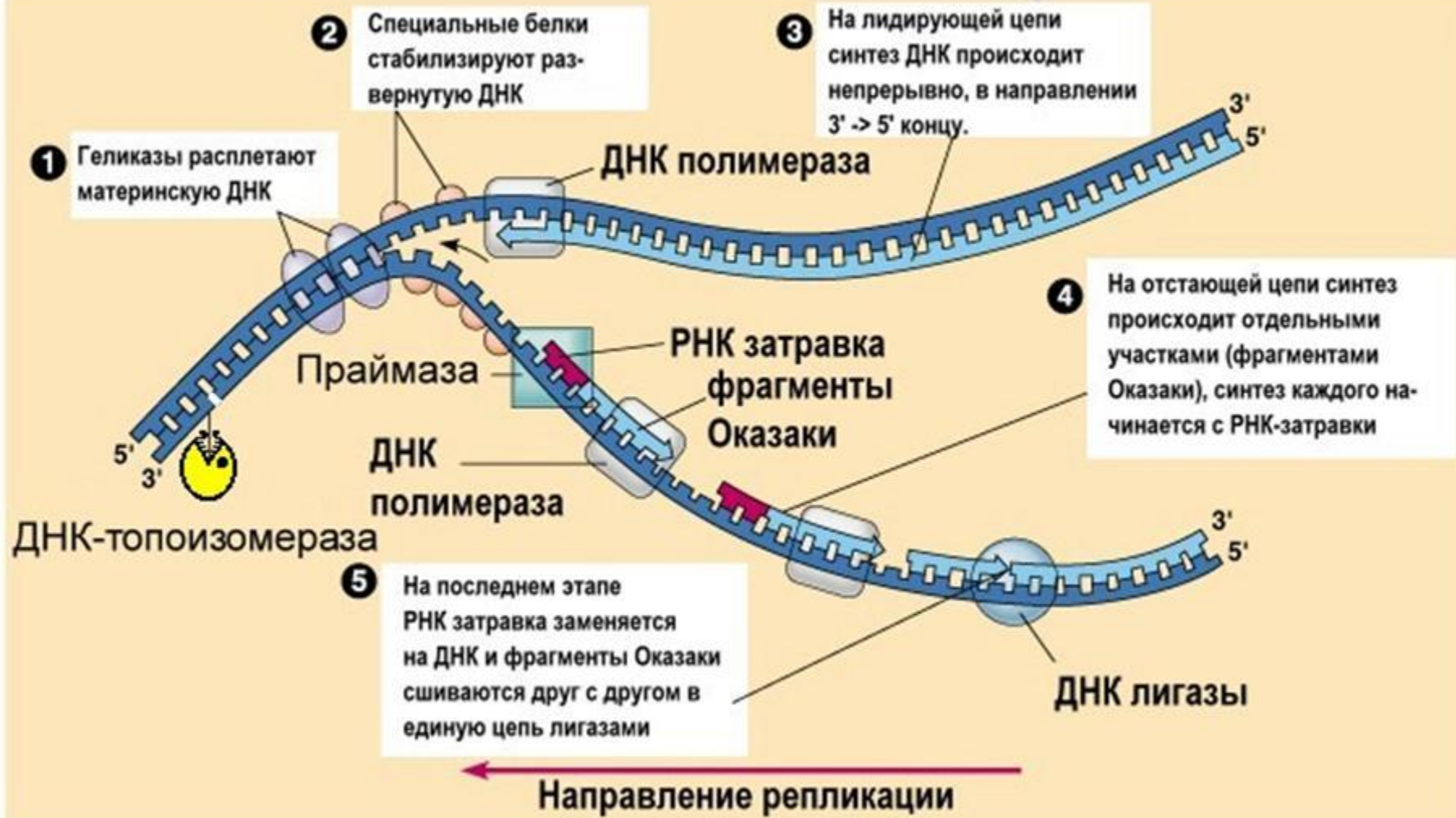
- ▶ 1. Бинарное деление –
 - ▶ большинство бактерий,
 - ▶ *при благоприятных условиях происходит каждые 20 минут,*
 - ▶ процессу деления клетки пополам предшествует период роста цитоплазмы и репликации (удвоения) ДНК

Механизм репликации бактериальной ДНК

Этапы:

- ▶ 1. **инициация** – начало деления ДНК под действием **репликона** = участка ДНК, содержащего информацию о дублировании;
- ▶ 2. **элонгация** – удлинение, рост цепи ДНК;
- ▶ 3. **терминация** – завершение роста цепи и спирализация ДНК.

Процесс репликации ДНК

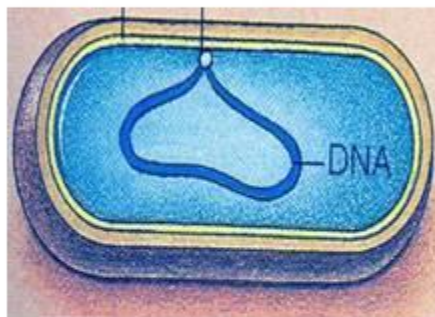


Бинарное деление

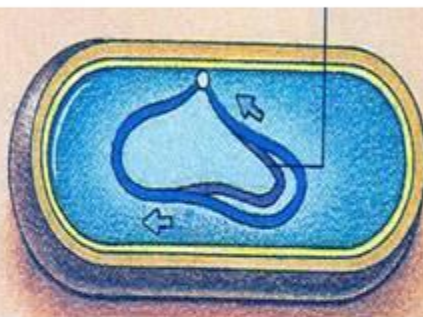
- ▶ Параллельно с репликацией ДНК происходит **рост самой клетки**,
- ▶ расстояние между прикрепленными посредством мезосом к цитоплазматической мембране двумя новыми ДНК постепенно увеличивается.
- ▶ Прокариотическая клетка начинает делиться:
 - ▶ перегородка формируется от КС к центру клетки – Γ^+ ,
 - ▶ перетяжка клетки (клетка истончается посередине) – Γ^- .

Размножение бактерий - бинарное деление

Место прикрепления ДНК
к мембране



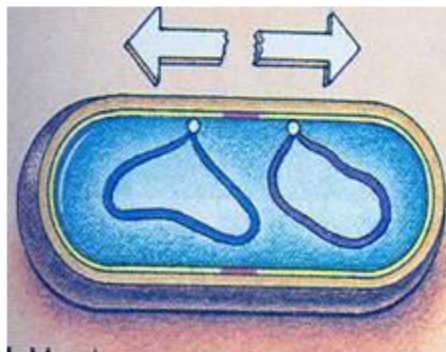
Частично
реплицированная ДНК



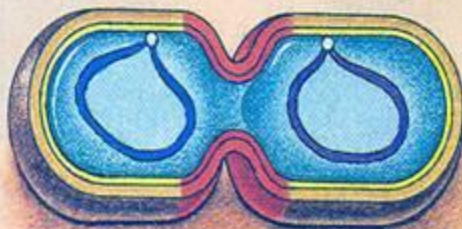
Две ДНК (хромосомы)



Расхождение хромосом



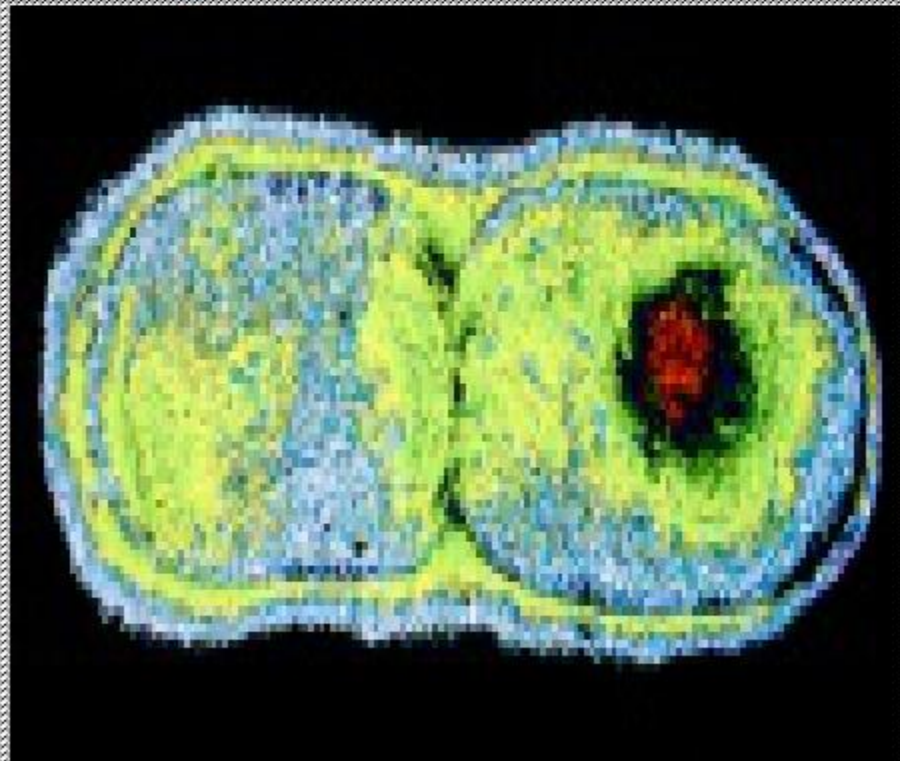
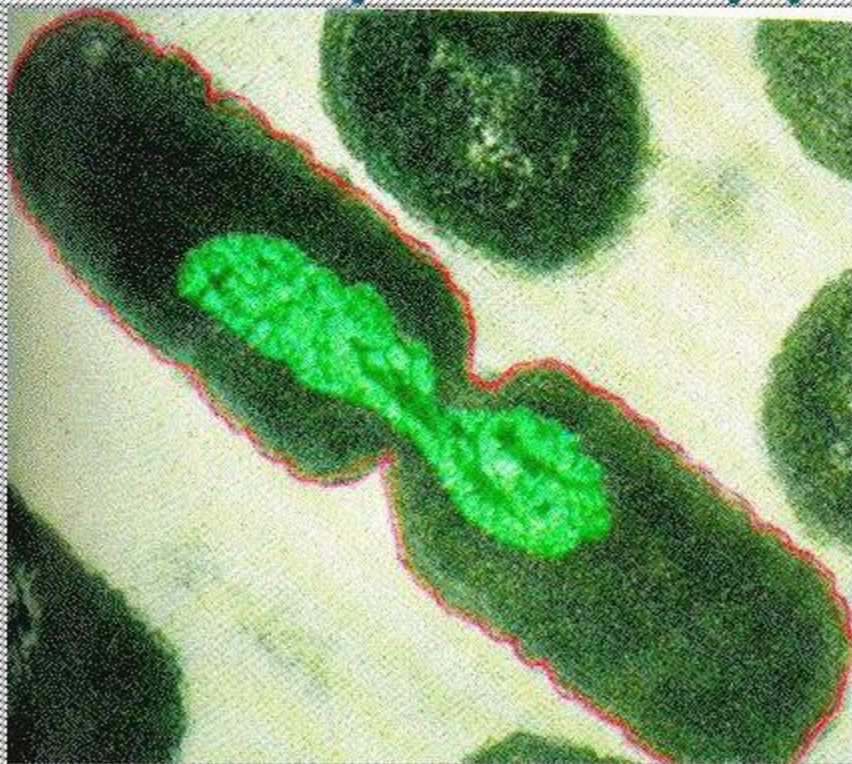
Формирование мембран
дочерних клеток



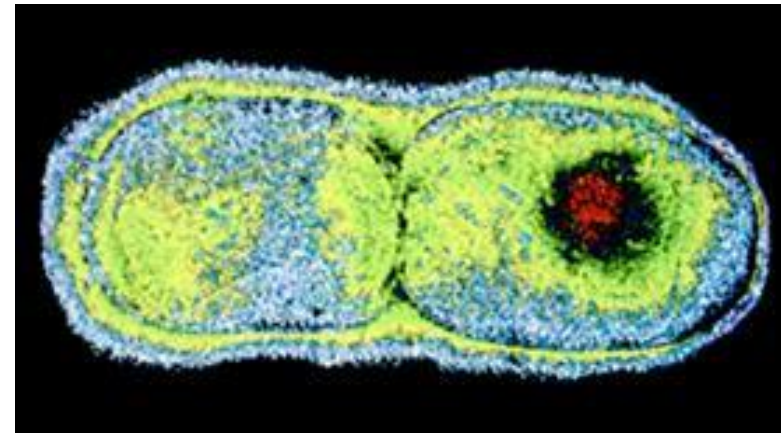
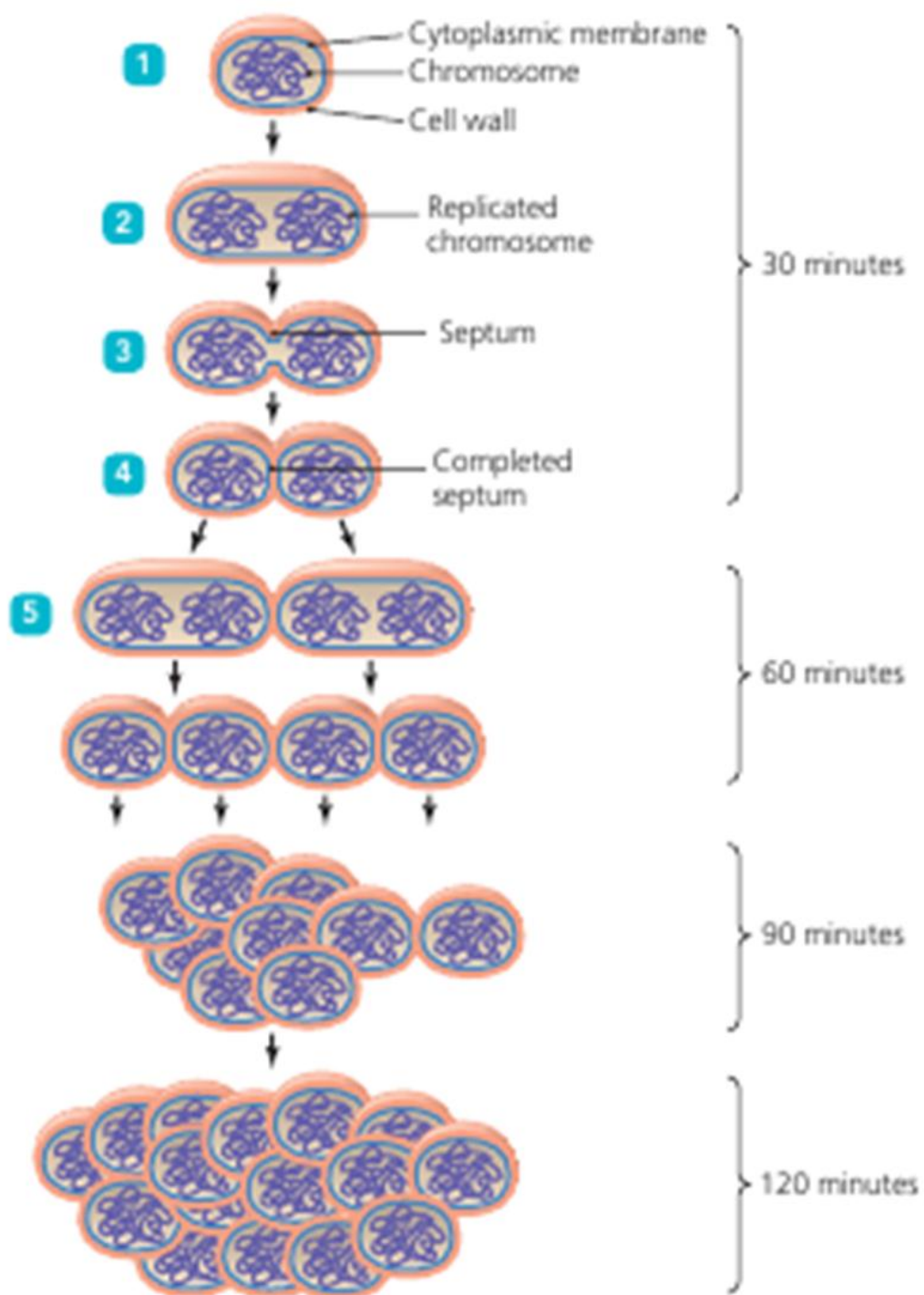
Дочерние клетки



Так выглядит деление бактерии под микроскопом



Этапы размножения бактерий



Способы размножения бактерий

▶ 2. Почкование

- Francisella
- Микоплазмы
- Дрожжи

▶ 3. Фрагментация нитевидных форм

- Актиномицеты
- Микоплазмы

▶ 4. Экзоспores

Стрептомицеты

▶ 5. Особый цикл деления

Хламидии

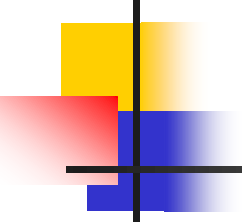
Размножение бактерий в жидкой питательной среде

- Основные стадии размножения микробов в жидкой среде в стационарных условиях:
- - **лаг- фаза** (начальная стадия адаптации с медленным темпом прироста биомассы)
- - **экспоненциальная (геометрического роста) фаза** с резким ростом численности популяции $m \propto 2^n$ (2 в степени n)
- - **стационарная фаза** (фаза равновесия размножения и гибели микробных клеток)
- - **стадия гибели** - уменьшение численности популяции в связи с уменьшением и отсутствием условий для размножения микроорганизмов (дефицит питательных веществ, изменение pH, rH_2 , концентрации ионов и других условий культивирования)

Кривая роста бактерий в жидкой питательной среде



Культивирование микроорганизмов

- 
- Для выделения чистой культуры микроорганизмов, изучения их биологических свойств с целью идентификации, а также для получения биомассы необходимо размножить микроорганизмы в условиях лаборатории.
 - **Культивирование**, или выращивание, микробов возможно лишь при создании определенных условий для их жизнедеятельности.
 - Большинство бактерий, дрожжей, плесеней культивируют на искусственных питательных средах.
 - Вирусы и риккетсии размножаются только в живых клетках, культуре тканей, курином эмбрионе или в организме животного.

Питательные среды

- Питательной средой в микробиологии называют среды, содержащие различные соединения сложного или простого состава, которые применяются для размножения бактерий или других микроорганизмов в лабораторных или промышленных условиях.

Питательные среды

Питательные среды должны обязательно отвечать основным требованиям:

- они должны содержать в достаточном количестве все необходимые питательные вещества (источники энергии, углерода, азота), соли и ростовые факторы;
- должны иметь определенные, значения рН, осмотические и другие физико- химические свойства, оптимальные для роста данного вида бактерий;
- должны иметь достаточную влажность (при их усыхании повышается концентрация питательных веществ, особенно солей, до уровней, тормозящих рост бактерий).
- питательные среды для лучшего определения культуральных свойств бактерий должны быть по возможности прозрачными.
- должны быть стерильными, не содержать посторонней микрофлоры.

Классификация питательных сред

По консистенции:

**жидкие;
полужидкие;
плотные.**

По составу:

**простые;
сложные.**

По происхождению:

**естественные;
искусственные;
синтетические.**

По назначению:

**основные;
обогащённые (специальные);
селективные (элективные);
накопительные;
дифференциально-диагностические;
транспортные и консервирующие;
среды для хранения культур.**

По консистенции



жидкие

бульон мясо-пептонный (см.), пептонную воду, сахарный бульон, бульон Хоттингера



полужидкие

0,5% агар мясо-пептонный



плотные

1,5—2% агаровые среды, питательная желатина, свернутая сыворотка, свернутый яичный белок,



Классификация питательных сред

- 2. По составу:

- простые — мясопептонный агар, мясопептонный бульон, агар Хоттингера и др.;

- сложные — это простые с добавлением дополнительного питательного компонента (кровяного, шоколадного агара): сахарный бульон, желчный бульон, сывороточный агар, желточно-солевой агар, среда Китта—Тароцци, среда Вильсона—Блера и др.

Классификация питательных сред

- 1. По происхождению:

- **естественные** (молоко, желатин, картофель и др.);
- **искусственные** — среды, приготовленные из специально подготовленных природных компонентов (пептона, аминокептида, дрожжевого экстракта и т. п.);
- **синтетические** — среды известного состава, приготовленные из химически чистых неорганических и органических соединений (солей, аминокислот, углеводов и т. д.).

КЛАССИФИКАЦИЯ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ПО НАЗНАЧЕНИЮ

Вид	Назначение	Примеры
Простые (универсальные)	Для не- требовательных бактерий	МПБ, МПА
Специальные	Для требовательных бактерий	Глюкозный МПБ, кровяной МПА, среда Китт-Тароцци
Дифференциально- диагностические	Для дифферен- цирования бактерий	Среды Гисса, Эндо, Левина ЖСА
Элективные селективные	Для накопления бактерий опреде- ленного вида	Щелочная пептонная вода, Ру, Плоскирева, Мюллера, селенитовый бульон
Транспортные и Консервирующие	Для сохранения бактерий при транспортировке	Глицериновая смесь Среда Амiesa (полужидкий МПА с активированным углем)

ЧИСТЫЕ КУЛЬТУРЫ МИКРООРГАНИЗМОВ И ИХ ПОЛУЧЕНИЕ

- **Культивирование** – выращивание микроорганизмов на питательных средах. Вырастают *культуры микроорганизмов*.
- **Чистая культура** – культура микроорганизмов одного вида, представленная потомством одной клетки. Для выделения чистой культуры используют плотные питательные среды, на которых каждая клетка вырастает в виде *изолированной колонии*.
- **Изолированная колония** – потомство микроорганизмов, образовавшееся из одной клетки.
- **Рост культуры** – физиологический процесс, в результате которого увеличивается *биомасса*

ЧИСТЫЕ КУЛЬТУРЫ МИКРООРГАНИЗМОВ И ИХ ПОЛУЧЕНИЕ

- **Биомасса** — масса клеточного вещества данного микроорганизма.
- **Накопительные культуры** состоят преимущественно из клеток микроорганизмов одного вида.
- **Посев** - внесение части исследуемого материала в стерильную питательную среду.
- **Пересев** — перенос части выросшей на питательной среде культуры микроорганизмов на другую свежую питательную среду.
- **Элективные условия** — это условия, которые способствуют развитию одной выделяемой культуры и ограничивают развитие сопутствующих микроорганизмов.

Для изучения морфологических и физиологических свойств определенного вида микроорганизма необходимо выделить микроорганизмы в чистую культуру (изолировать от других видов).

Включает три этапа:

- 1. получение накопительной культуры в элективных условиях**
- 2. выделение чистой культуры**
- 3. определение чистоты выделенной культуры**

1. получение накопительной культуры в элективных условиях.

Элективными условиями могут быть:

- использование элективных сред,
- повышенная температура для термоустойчивых форм,
- повышенная кислотность для кислотоустойчивых и т.д.

В этих условиях происходит преимущественное накопление выделяемой культуры, а сопутствующие микроорганизмы не будут развиваться.

2. выделение чистой культуры

3. определение чистоты выделенной культуры:

- визуальный метод
- микроскопирование
- посев на ряд питательных сред

СПОСОБЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

Культивирование можно проводить:

1. **поверхностным или глубинным,**
2. **периодическим или непрерывным методами,**
3. **в аэробных или анаэробных условиях.**

Способ культивирования зависит от конечной цели культивирования:

- ✓ накопление биомассы,
- ✓ получение определенного продукта жизнедеятельности микроорганизма (метаболита).

СПОСОБЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

Поверхностный метод – выращивание аэробных микроорганизмов на поверхности жидких и сыпучих питательных сред.

При поверхностном культивировании стараются увеличить площадь соприкосновения среды с воздухом.

- На жидких средах микроорганизмы растут в виде пленок (например, в производстве лимонной кислоты).
- На сыпучих питательных средах поверхностным методом получают ферментные препараты.

СПОСОБЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

Глубинный метод – осуществляется на жидких средах, в которых микроорганизмы развиваются во всей толще. Сочетание питательной среды и растущих в ней микроорганизмов называют *культуральной жидкостью*.

Так как микроорганизмы могут утилизировать только растворенный в воде кислород, а растворимость кислорода в воде невелика, то для обеспечения роста аэробных микроорганизмов их необходимо постоянно снабжать кислородом. Процесс подвода кислорода вглубь жидкой среды называется *аэрированием*. Аэрирование осуществляется путем продувания стерильного воздуха через культуральную жидкость.

СПОСОБЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

Глубинный метод широко используется для:

- ✓ получения биомассы микроорганизмов (прессованные хлебопекарные дрожжи, кормовые дрожжи)
- ✓ Получения различных продуктов жизнедеятельности микроорганизмов (органических кислот, ферментов, антибиотиков, аминокислот).

Глубинное культивирование продуцентов этих веществ в производстве осуществляют в специальных аппаратах В ферментаторах (объем может достигать 100 м³ (100 000 л)).

СПОСОБЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

Глубинное культивирование микроорганизмов может быть **периодическим и непрерывным**:

➤ Периодический метод культивирования

Весь объем питательной среды засевают чистой культурой и выращивание ведут в оптимальных условиях определенный период времени до накопления нужного количества целевого продукта.

Поскольку культивирование ведется на невозобновляемой питательной среде (в стационарных условиях), клетки все время находятся в меняющихся условиях:

- ✓ Сначала они имеют в избытке все питательные вещества,
- ✓ затем постепенно наступает недостаток питания и отравление вредными продуктами обмена. В связи с этим культура в своем развитии проходит четыре фазы роста и размножения. В течение этих фаз изменяются размеры клеток, скорость размножения, морфологические и физиологические свойства.

Периодический метод культивирования

I - лаг-фаза (фаза задержки роста).

Эта фаза следует непосредственно за внесением посевного материала в питательную среду. Микроорганизмы не размножаются. Они приспосабливаются к среде, происходит повышение содержания нуклеиновых кислот, увеличение размера.

Эта стадия является подготовкой к дальнейшему интенсивному синтезу белка клеткой, т. е. ее росту и размножению.

II - фаза логарифмического роста.

Характеризуется высокой скоростью размножения клеток, так как в среде много питательных веществ и мало вредных продуктов обмена. Время, необходимое для удвоения числа клеток, называется *продолжительностью генерации*. В благоприятных условиях клетки бактерий делятся каждые 20-30 мин., их число увеличивается в геометрической прогрессии (1, 2, 4, 8, 16 и т. д.).

Периодический метод культивирования

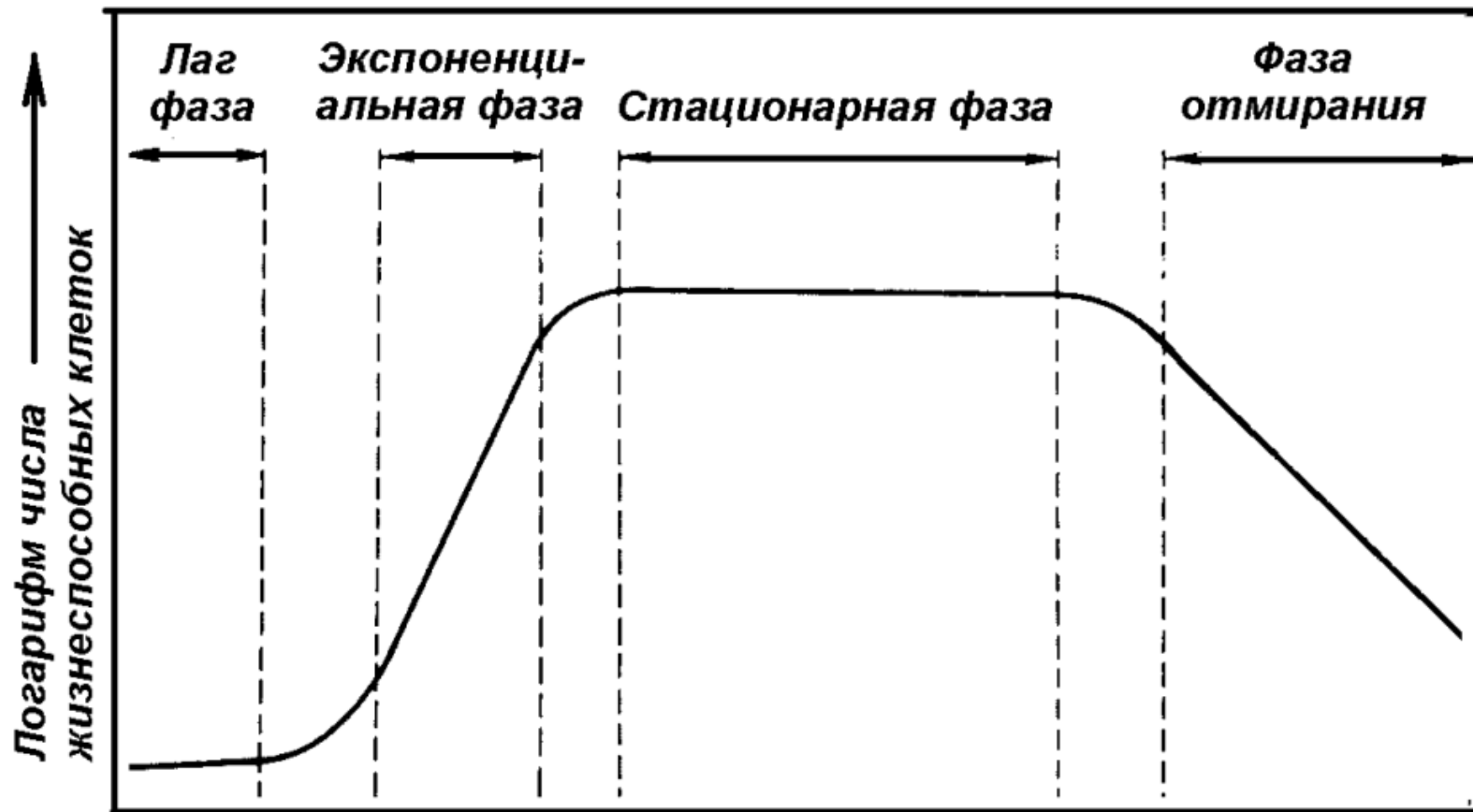
III – стационарная фаза (фаза зрелости).

Размножение микроорганизмов замедляется. Скорости размножения и отмирания уравниваются. В результате - число клеток остается постоянным.

IV - фаза отмирания.

Начинается гибель клеток и их количество снижается за счет отмирания и автолиза (самопереваривания).

Кривая роста периодической культуры



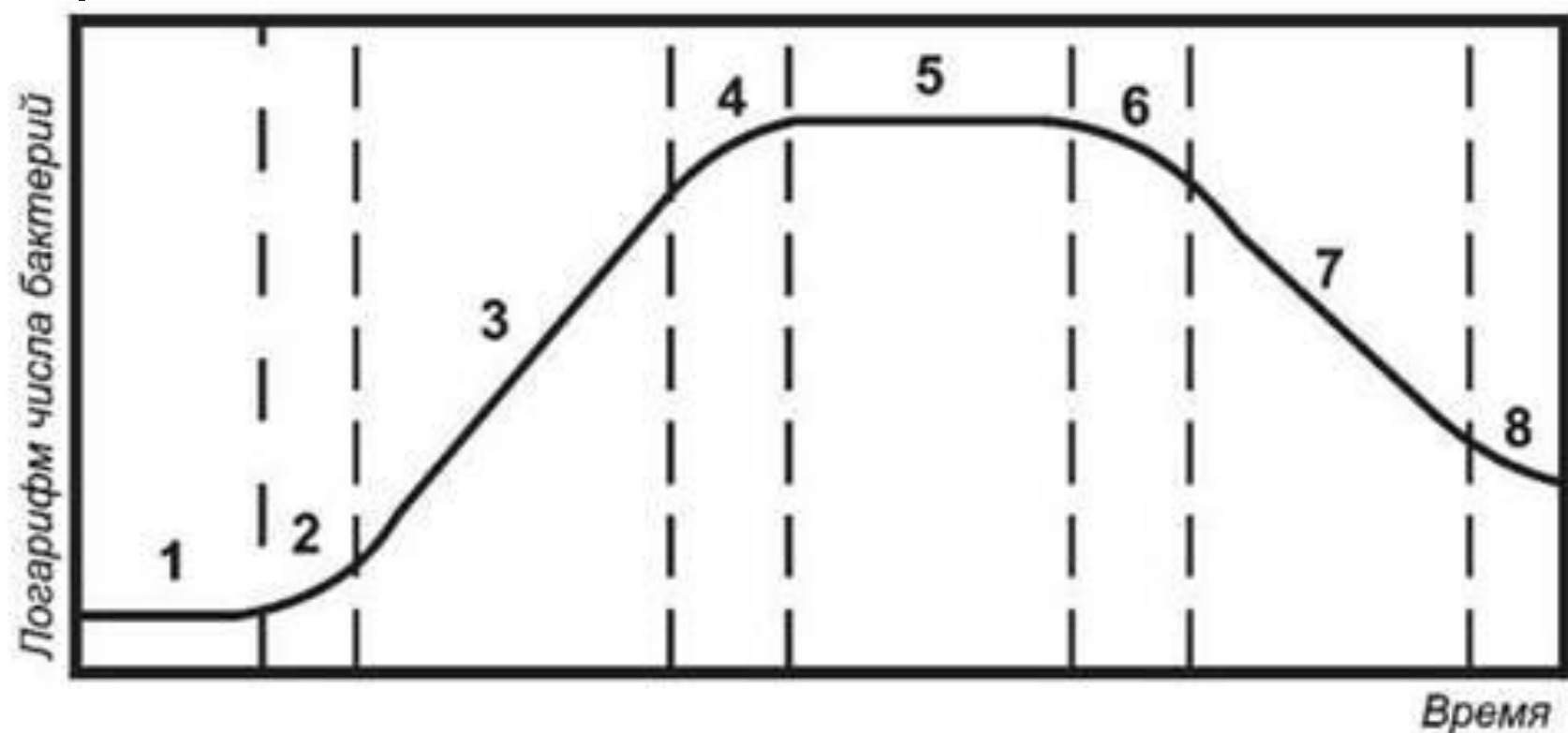


Рис. 54. Кривая роста бактерий:

1 – лаг-фаза; 2 – фаза ускоренного размножения; 3 – логарифмическая фаза; 4 – фаза отрицательного ускорения роста; 5 – стационарная фаза; 6 – фаза ускоренной гибели; 7 – фаза логарифмической гибели; 8 – фаза уменьшения скорости отмирания

СПОСОБЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

Метод непрерывного культивирования микроорганизмов:

Культура находится в специальном аппарате. В него постоянно притекает свежая питательная среда и с такой же скоростью отводится *культуральная жидкость*. Посевной материал выращивается до стадии логарифмического роста и вносится в питательную среду. Длительность периода логарифмического роста зависит от:

- ✓ количества питательных веществ в среде,
- ✓ количества вредных продуктов обмена, выделяемых клеткой.

При большой скорости притока среда быстро обновляется, питательные вещества не успевают исчерпаться, продукты обмена не успевают накопиться и культура поддерживается долго в активном состоянии, не достигая стадии отмирания.

Метод непрерывного культивирования имеет ряд преимуществ по сравнению с периодическим способом.

Метод непрерывного культивирования

- ✓ широко используется в пищевой и микробиологической промышленности,
- ✓ создает возможность автоматического поддержания заданных оптимальных условий. Благодаря этому обеспечивается стандартность готового продукта при наименьших затратах.

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ АЭРОБНЫХ И АНАЭРОБНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Микроорганизмы по-разному относятся к молекулярному кислороду. Это определяет различия в способах их культивирования.

1. Культивирование аэробных микроорганизмов:

- проводят на поверхности плотных сред или в тонком слое жидких сред, когда микроорганизмы получают кислород непосредственно из воздуха;
- в жидких средах (глубинное культивирование). В этом случае микроорганизмы используют растворенный в среде кислород (требуется постоянное аэрирование).

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ АЭРОБНЫХ И АНАЭРОБНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

2. Культивирование анаэробных микроорганизмов более сложно, чем выращивание аэробов (должен быть минимальным контакт микроорганизмов с молекулярным кислородом).

Микроорганизмы культивируют в замкнутом пространстве и используют *физические, химические и биологические методы* создания анаэробных условий:

- **К физическим методам** относится культивирование в микроанаэроостате. Это вакуумный аппарат для выращивания микроорганизмов, в котором воздух замещен газовой смесью (часто это такой состав: азот с 5% CO_2 и 10% H_2).
- **К химическим методам** относится:
 - 1) использование химических веществ, поглощающих молекулярный кислород (щелочной раствор пирогаллола, дитионит натрия ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$), металлическое железо и др.).
 - 2) использование восстанавливающих агентов, которые добавляют в большинство сред для снижения окислительно-восстановительного потенциала среды: тиогликолат натрия, цистеин, аскорбиновая кислота.

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ АЭРОБНЫХ И АНАЭРОБНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

- К биологическим методам создания анаэробных условий относится:
 - ✓ выращивание совместно с аэробными или факультативно анаэробными бактериями. Например, питательную среду в чашке Петри разделяют желобком на две половины, на одну половину засевают какой-либо аэробный микроорганизм, на другой - анаэроб. Края чашки заливают парафином. Рост анаэробного микроорганизма начнется только после полного использования кислорода аэробом.
 - ✓ выращивание в высоком слое среды;
 - ✓ выращивание в толще плотной среды;
 - ✓ культивирование в вязких средах, в которых диффузия молекулярного кислорода в жидкость уменьшается с увеличением ее плотности;
 - ✓ заливка среды с посевом высоким слоем стерильного вазелинового масла или парафина.

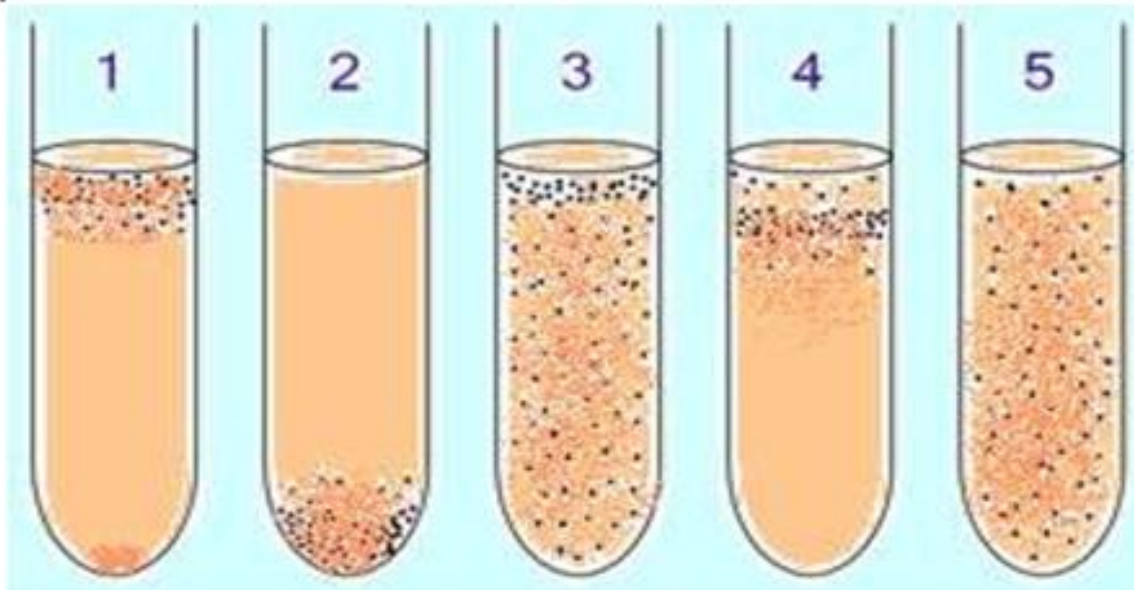


Культивирование бактерий на искусственных питательных средах

- На твердой питательной среде растут в виде колоний.
- На жидкой питательной среде могут расти в виде диффузного помутнения, поверхностной пленки и осадка.

Особенности микробного роста на жидких питательных средах.

- 1 и 4. Поверхностный рост бактерий, характеризующийся появлением на поверхности жидкой питательной среды пленки или скопления под поверхностью.
- 2. Придонный рост бактерий, характеризующийся образованием осадка на дне пробирки с жидкой питательной средой.
- 3. Пристеночный рост бактерий, выражающийся в образовании рыхлых хлопьев, прикрепленных к внутренней поверхности стенок сосуда.
- 5. Рост бактерий с равномерным помутнением среды.
- **Рост на полужидкой питательной среде** характеризуется помутнением всей толщи среды или образованием сосульки цилиндрической или конической формы.



Размножение бактерий на плотной питательной среде.

- Бактерии, растущие на плотных питательных средах, образуют изолированные колонии различной формы, с ровными или неровными краями (S- и R-формы), различной консистенции и цвета, зависящего от пигмента бактерий и другими особенностями.
- Вид, форма, цвет и другие особенности колоний (культуральные свойства) могут учитываться при идентификации бактерий, а также отборе колоний для получения чистых культур

Культуральные свойства бактерий

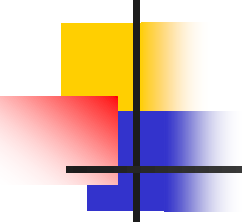
- Колонии различаются по величине, форме, цвету, консистенции, контуру края, структуре и характеру поверхности:
- по величине — крупные (диаметр более 4—5 мм), средние (2—4 мм) и малые (1—2 мм)
- по форме — круглые, розеткообразные, листовидные и т. д.
- по цвету, зависящему от пигмента — белого, ярко-синего, красного цветов и т. д.
- по консистенции — сухие, влажные, сочные, слизистые
- по поверхности — гладкие, морщинистые, исчерченные, плоские, выпуклые, плосковыпуклые, вдавленные
- по краю — с ровными, волнистыми, бахромчатыми краями
- по структуре — могут иметь аморфную, зернистую, волокнистую внутреннюю структуру
- в чистой культуре, выращенной на скошенном питательном агаре, характер роста может быть сухим, влажным, ползучим, складчатым, пигментированным

F



Культуральные свойства бактерий.

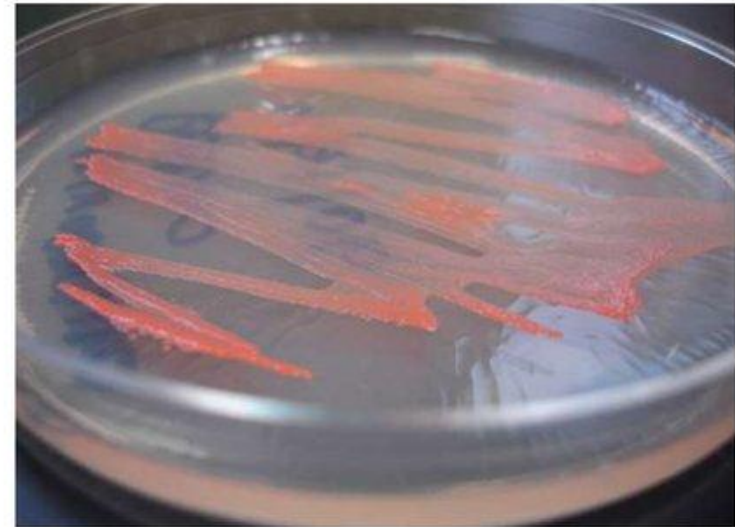
Пигменты

- 
- Некоторые виды бактерий и грибов способны вырабатывать красящие вещества, называемые пигментами.
 - Пигменты обеспечивают защиту клеток от природной ультрафиолетовой радиации, участвуют в биохимических реакциях, обладают антибиотическим действием.
 - Пигменты подразделяют на растворимые в воде, растворимые в спирте, нерастворимые в воде и спирте.
 - Образование пигментов происходит при хорошем доступе кислорода, у большинства видов при рассеянном солнечном свете и оптимальной температуре 20-25 °С.
 - Микроорганизмы выделяют различные по цвету пигменты: растворимый в воде синий пигмент пеоцианин (*Pseudomonas aeruginosa*); водорастворимый зеленый пигмент флюоресцин (*Ps. fluorescens*); красный, растворимый в спирте пигмент продигиозин (*Serratia marcescens*).

- Культуральные свойства бактерий.
Пигменты.



Рост колоний синегнойной палочки.



Рост чистой культуры *Micrococcus roseus*



Рост чистой культуры *S. aureus*

Культуральные свойства бактерий.

Температурные условия и доступ кислорода.

- Большое значение для роста и размножения микроорганизмов на искусственных питательных средах имеют **температурные условия**.
- По отношению к температурному режиму все микроорганизмы делят на три группы: **психрофильные** (холодолюбивые), **мезофильные** (средние), **термофильные** (теплолюбивые). Температурные границы размножения у психрофилов составляют от 0 до 20 °С, у мезофилов - от 20 до 45 °С, у термофилов - от 45 до 70 °С.
- При выращивании **аэробов** посеvy культивируют в термостатах при доступе кислорода воздуха, т. е. в обычных условиях.
- Для культивирования **анаэробов** создают бескислородные условия, которые можно достичь физическими, химическими и биологическими методами. Используют также анаэробные термостаты.

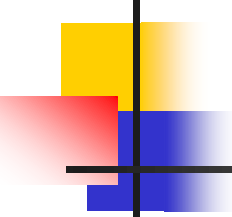
* Культивирование анаэробов

* Для создания бескислородных условий используют:

1. Физические методы (механическое удаление кислорода в анаэроостате)
2. Использование питательных сред, содержащих редуцирующие кислород вещества (тиогликолевая среда, среда Китта-Тароцци
3. Использование химических поглотителей кислорода (пирогаллола) и системы Gas-Pak
4. Использование биологического метода, основанного на одновременном культивировании строгих аэробов и анаэробов на плотной среде в чашке Петри (метод Фортнера)

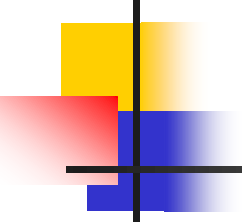
Культуральные свойства бактерий.

Ароматические вещества.

- 
- Некоторые микроорганизмы в процессе жизнедеятельности вырабатывают летучие **ароматические вещества**, сообщающие молочным продуктам (маслу, сыру) приятные специфические запах и вкус. Из этих веществ наибольшее значение имеют диацетил, летучие кислоты, этиловый спирт, уксусноэтиловый и уксусноамиловый эфиры и др.
 - Среди молочнокислых бактерий наиболее интенсивно выражено ароматообразование у гетероферментативных молочнокислых стрептококков *Lactococcus diacetylactis*, *Leuconostoe cremoris*, *Leuconostoc dextranicum*.
 - Ароматические вещества при длительном хранении продукта разрушаются, особенно при высоких плюсовых температурах.

Культуральные свойства бактерий.

Свечение.

- 
- **Свечение (люминесценция)** представляет собой своеобразную форму освобождения энергии при окислительных процессах. Светящиеся микроорганизмы могут вызывать свечение различных пищевых продуктов (мяса, рыбы, сыра и т. д.). Светятся некоторые грибы, живущие в старых пнях и корнях деревьев.
 - Светящиеся бактерии называют **фотобактериями**. К ним относятся некоторые кокки, вибрионы, палочки, красящиеся по Граму отрицательно, не образующие спор.
 - Большая часть видов светящихся бактерий являются аэробами. Оптимальная температура роста и свечения 15-18 °С, содержание хлорида натрия около 3 %.
 - Типичным представителем фотогенных микробов является *Photobacterium phosphoreum* - неподвижная кокковидная палочка.

*** Условия культивирования бактерий**

1. Наличие полноценной питательной среды
- 2.. Создание оптимальной температуры культивирования
3. Создание оптимальной атмосферы культивирования
4. Соблюдение времени культивирования
5. Создание оптимальных световых условий
6. Соблюдение стерильности

Физиология грибов

Грибы имеют гетеротрофный тип питания.

Гетеротрофы – это живые организмы, которые питаются готовыми органическими веществами.

Среди грибов встречаются:

- 1) сапрофиты – питаются органическими веществами отмерших организмов, выделениями или продуктами жизнедеятельности живых организмов;
- 2) паразиты – питаются органическими веществами других живых организмов;
- 3) симбионты – образуют содружество с другими живыми организмами.

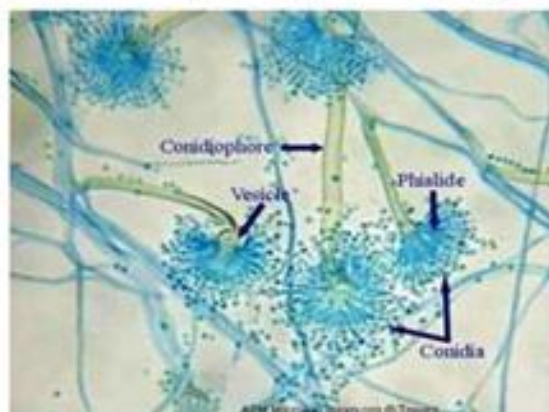
По типу дыхания в окружающей среде грибы аэробы, их тканевые формы (при попадании в макроорганизм) - факультативные анаэробы.

Физиология грибов

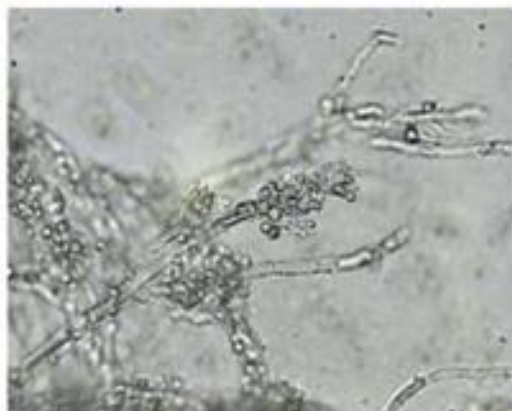
Размножение грибов

У грибов выделяют **половой** и **бесполой** типы размножения.
Совершенные грибы – размножаются половым и бесполом путем.
Несовершенные грибы – размножаются только бесполом путем.

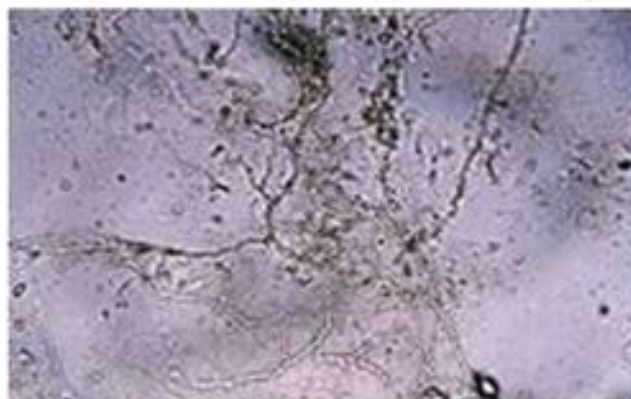
Совершенные грибы рода *Aspergillus*



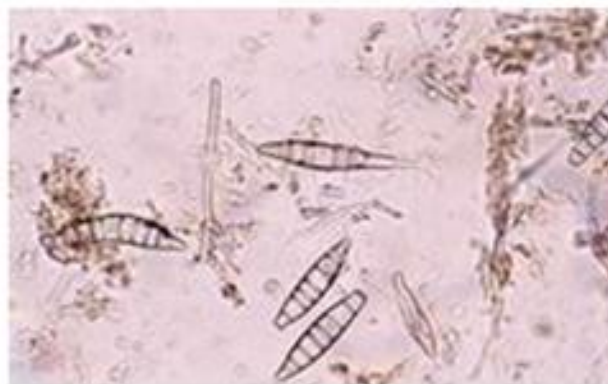
Совершенные грибы рода *Penicillium*



Несовершенные грибы рода *Microsporium*.



Несовершенные грибы рода *Trichophyton*.



Культивирование грибов

Культуральное исследование направлено на выделение чистой культуры гриба и ее идентификацию.

Посевы можно проводить на плотные и жидкие питательные среды (Сабуро, кукурузный, рисовый, картофельный агары).

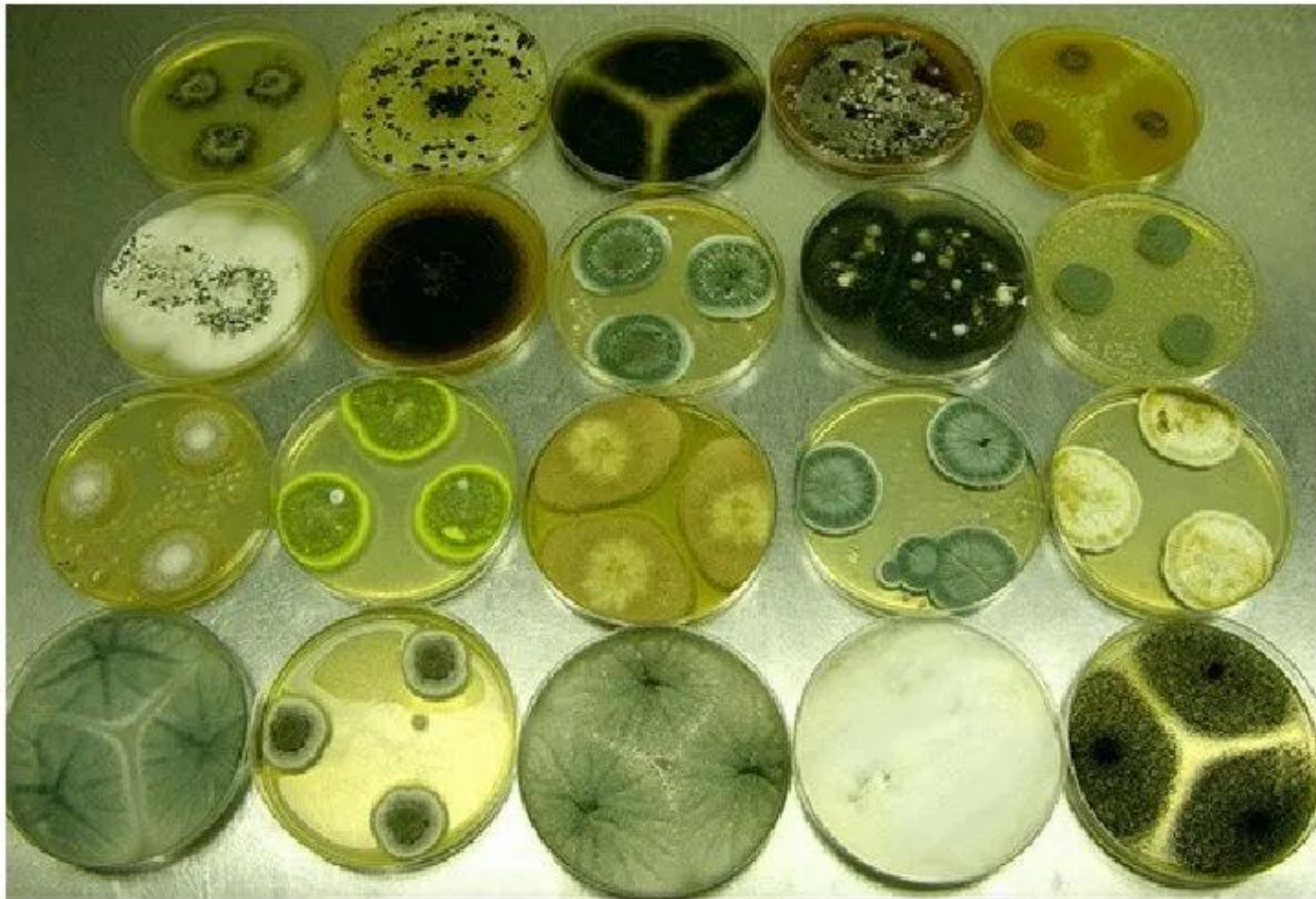
Культивирование грибов осуществляется при 22-28 градусов в течении 2-4 недель.

Если грибы оказались в смешанных культурах. Их чистые культуры получают после расщепов до изолированных колоний на кровяном агаре или после обработки соляной кислотой (для уничтожения бактерий)

Выделенные культуры грибов идентифицируют по внешнему виду и форме колоний, их консистенции, цвету, расположению конидиеносцев, спор, а также по биохимическим признакам.



Колонии различных плесневых грибов на чашках



Особенности физиологии простейших

- Гетеротрофы или аутотрофы.
- Размножаются бесполым или половым путем.
- Имеют сложный жизненный цикл, сопровождающийся сменой форм развития, полового и бесполого размножения, образуют цисты.
- Могут расти на питательных средах с добавлением аминокислот и белка (дизентерийная амёба, лямблии, трихомонады, лейшмании, балантидии).
- Для культивирования используют куриные эмбрионы, лабораторных животных



Рис. 5.1. Схема строения различных форм *Entamoeba histolytica*

Общая характеристика подцарства Простейшие

ОБЪЯТИЯ АМЕБЫ



Питание гетеротрофное: у одних пища может поступать в любом месте тела, у других она поступает через специализированные органоиды:

клеточный рот

клеточную глотку

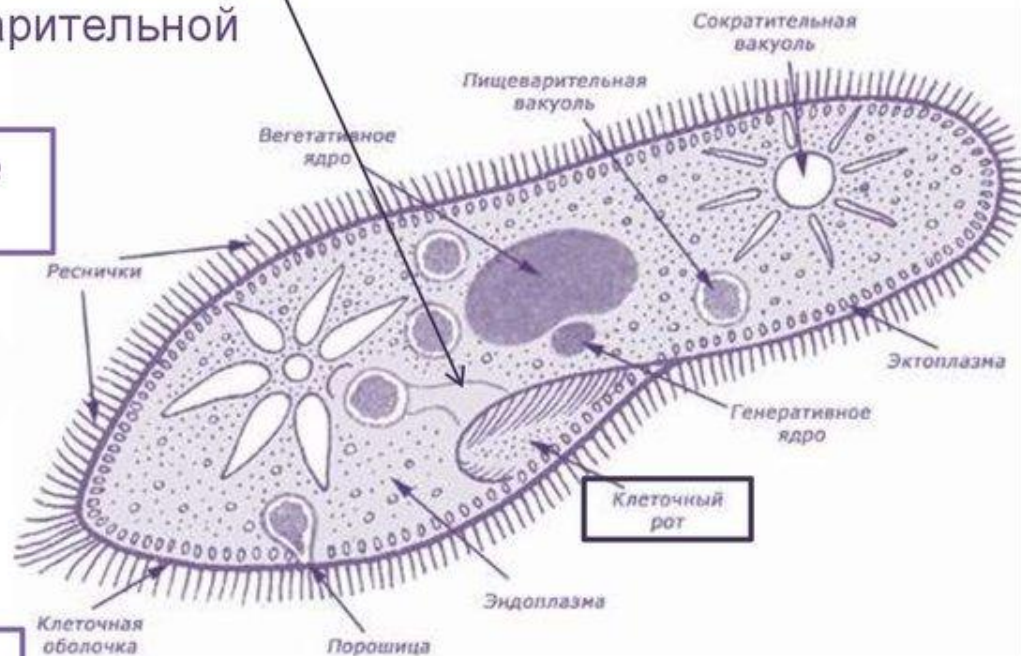
Пищеварение внутриклеточное с помощью пищеварительной вакуоли.

Есть миксотрофные организмы

ЧАСТО ФАТАЛЬНЫ



Эвглена зеленая





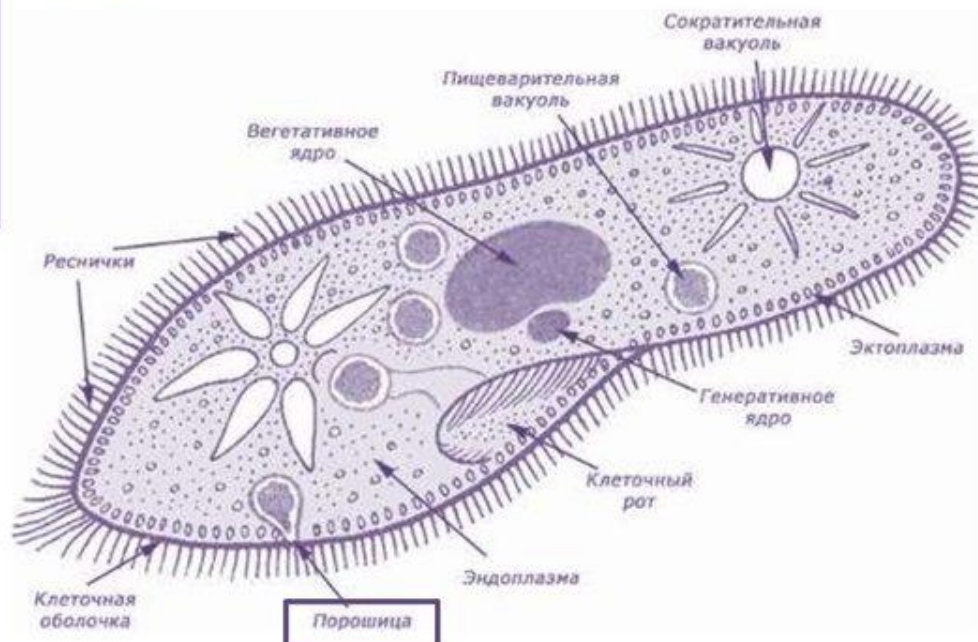
Выделение. Непереваренные остатки выделяются или в любом месте тела, или через специальное отверстие — **порошицу**. Часто эти организмы имеют сократительные вакуоли.



Дыхание. Подавляющее большинство простейших — аэробные организмы (дышат кислородом).



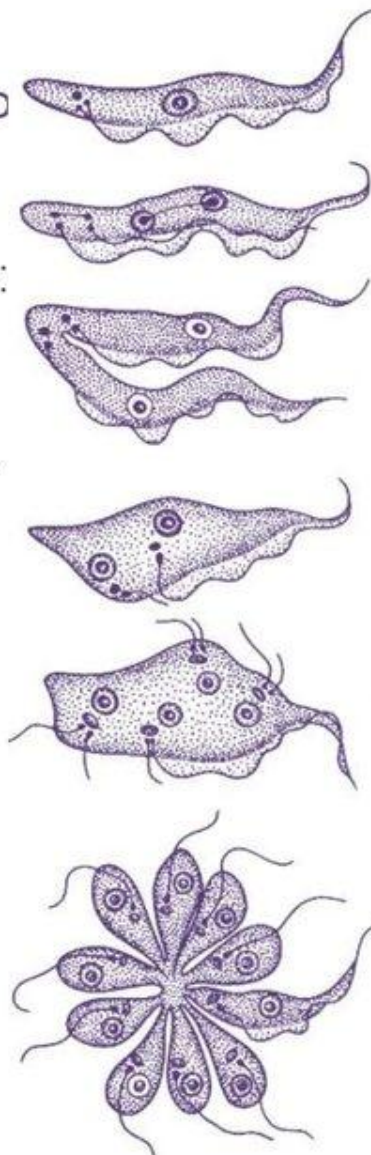
Ответная реакция на воздействия внешней среды — раздражимость — проявляется в виде **таксисов** движений всего организма, направленных либо в сторону раздражителя, либо от него.



Общая характеристика подцарства Простейшие

Инцистирование. При наступлении неблагоприятных условий большинство простейших образуют цисты.

Размножение. Бесполое размножение: - **деление, или** множественное деление - шизогония, при котором образуется несколько дочерних клеток. Существуют *половой процесс* — *конъюгация* (у инфузорий)



Тип Protozoa
Класс Sarcodina

Entamoeba histolytica



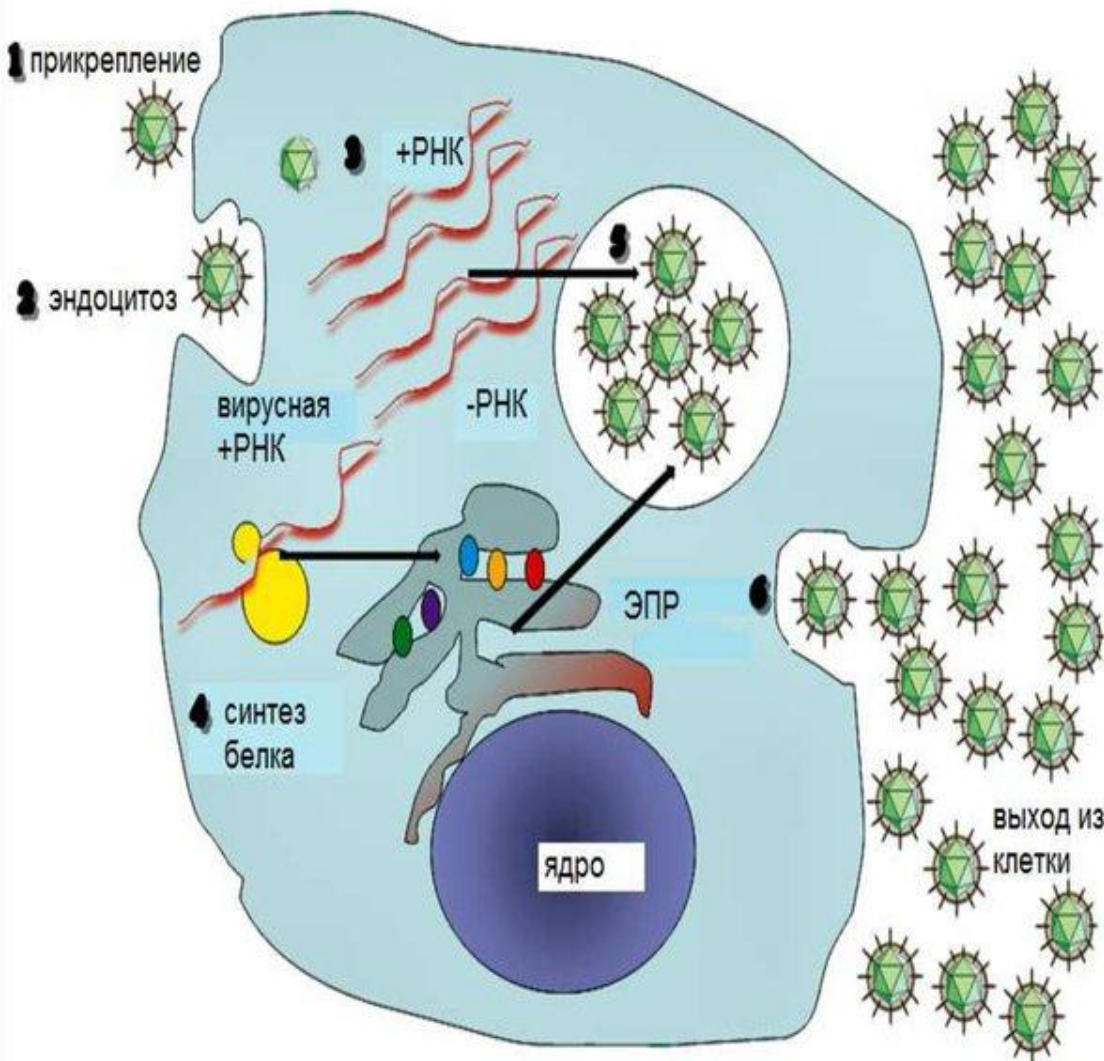
1. Ядро
2. Эритроциты
3. Эктоплазма
4. Эндоплазма



Физиология вирусов

Вирус является **облигатным внутриклеточным паразитом** и для размножения ему требуется живая клетка. Размножение вируса обеспечивает чувствительная или пермессивная клетка.

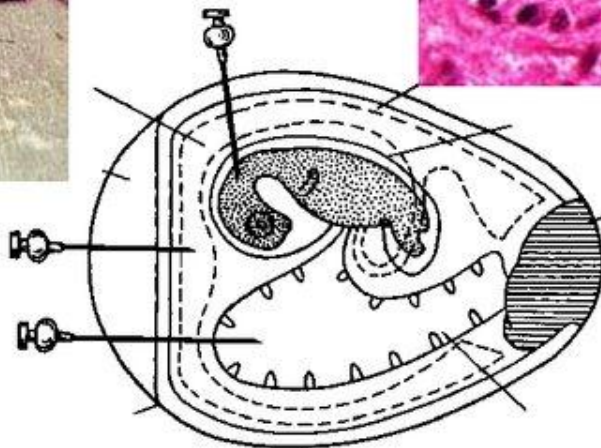
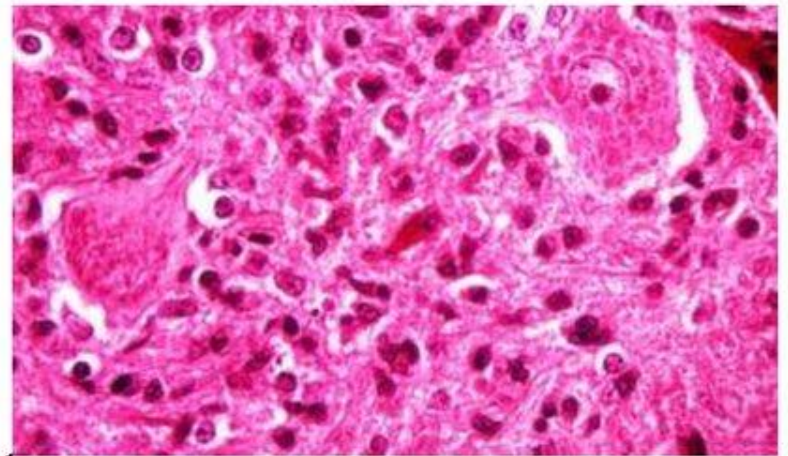
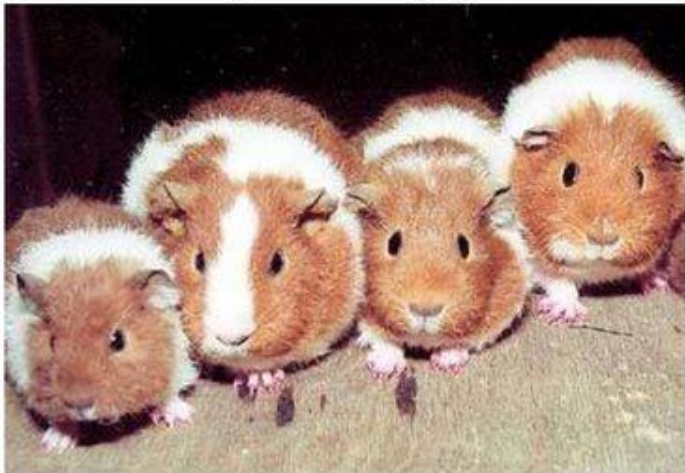
Этапы продуктивного типа взаимодействия



1. адсорбция вируса на клетке;
2. проникновение вируса в клетку;
3. «раздевание» вируса;
4. биосинтез вирусных компонентов в клетке;
5. формирование вирусов;
6. выход вирусов из клетки

Методы культивирования вирусов

- в организме лабораторных животных;
- в развивающихся куриных эмбрионах;
- в культурах клеток.



Культивирование вирусов в организме лабораторных животных

- Выбор экспериментальных животных определяется целью работы и видовой **чувствительностью** к изучаемому вирусу. Для заражения используют обезьян, кроликов, морских свинок, хомячков, белых крыс и мышей.
- Способ заражения зависит от тропизма вируса к определенным тканям: **нейротропные, респираторные, дерматотропные** вирусы и т.д. Наиболее часто используются накожное, внутрикожное, внутримышечное, внутрибрюшинное и внутримозговое заражение.



Основные методы культивирования вирусов: в курином эмбрионе (7-12-дневной)

Вирусный материал вводят в различные полости эмбриона, а через 48-72 ч. вскрывают и осматривают поражения. Способы заражения: открытый и закрытый.

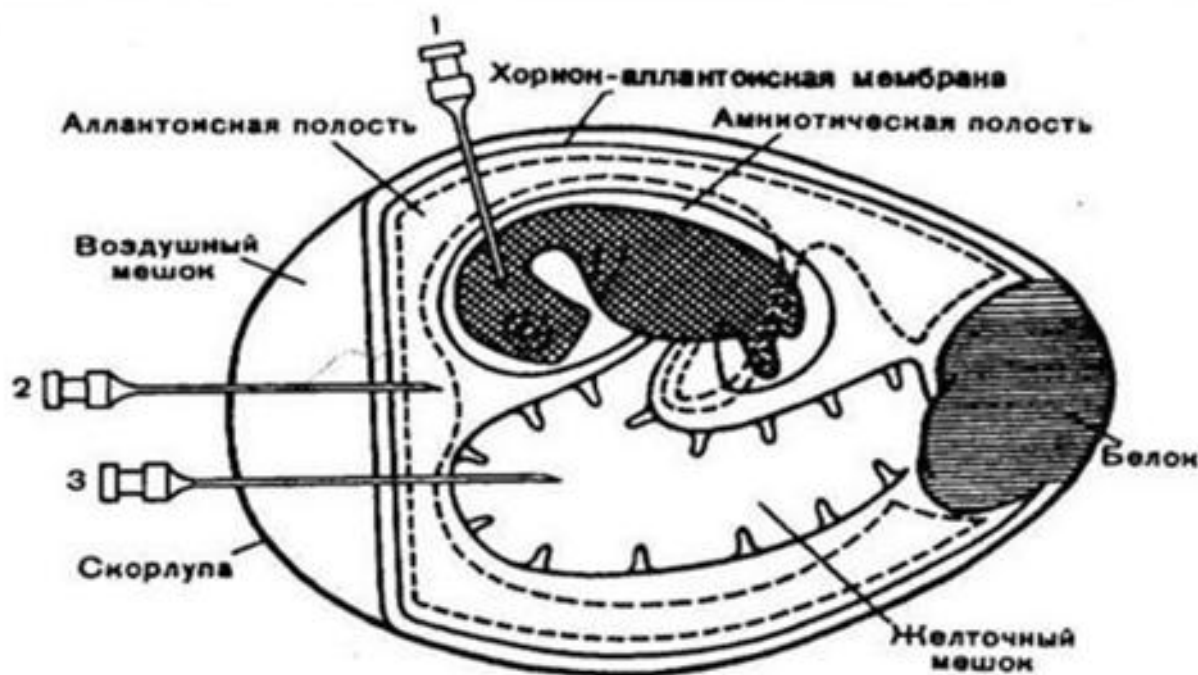
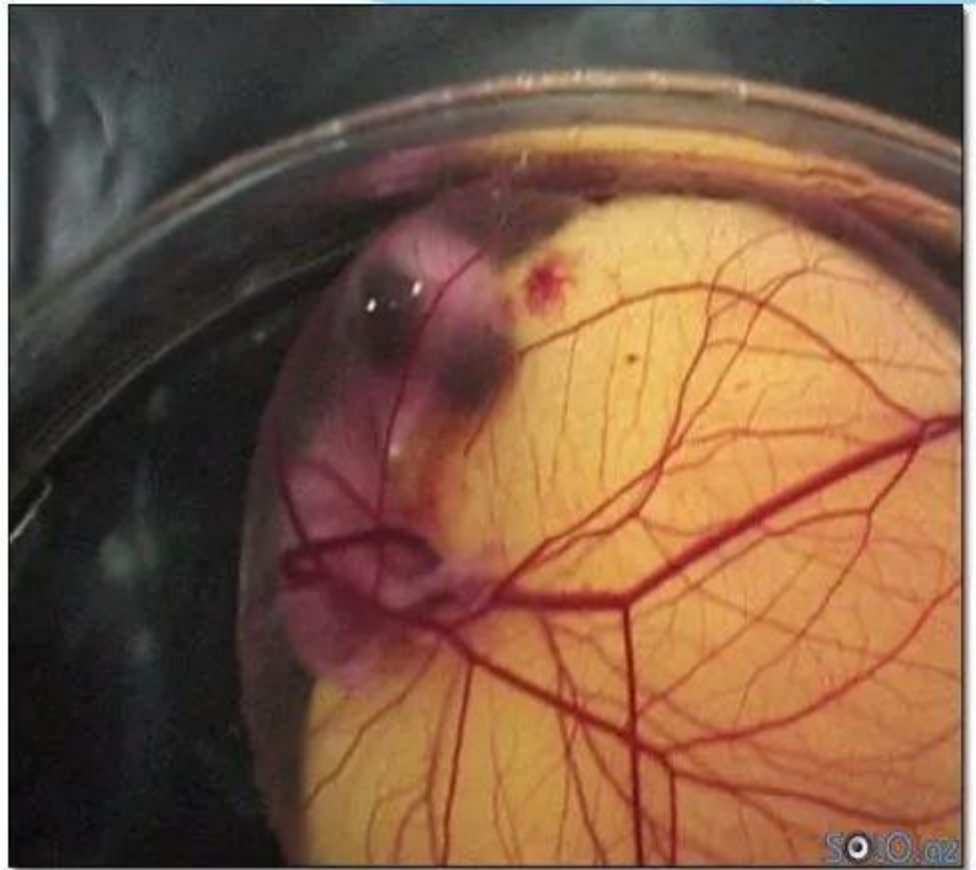
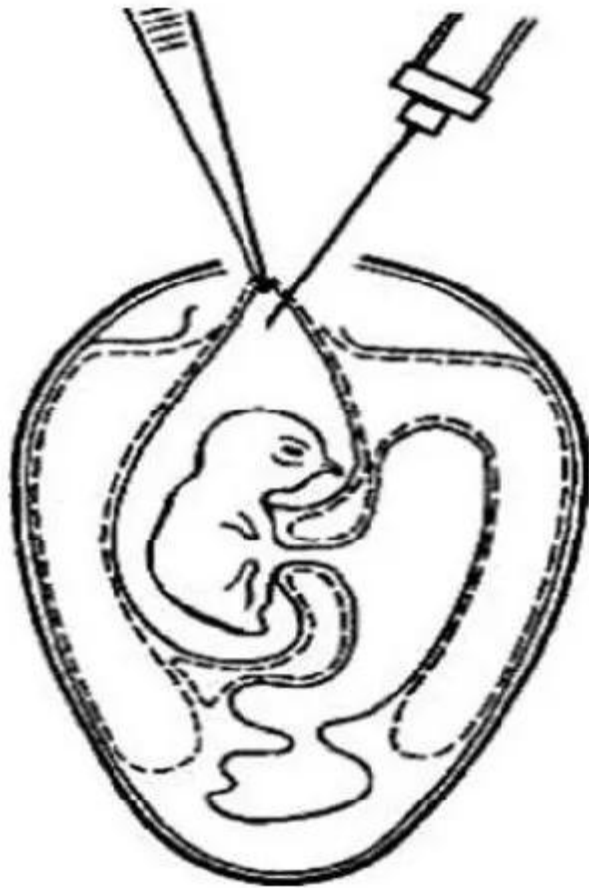


Рис.5.2.1. Способы заражения куриного эмбриона.

1 — в амниотическую полость; 2 — в аллантоисную полость; 3 — в желточный мешок.



Культуры клеток – часто применяют для культивирования. Выделяют:

- однослойные – используются в виде монослоя.
- суспензированные – нуждаются в питательной среде Игла (199), промышленные клетки.
- органные – цельные кусочки органов и тканей, применяются ограниченно.

Также выделяют по длительности генерации:

- Первичные – размножаются в первых генерациях и выдерживают не более 10 пассажей. Это первично-трипсинизированные клетки почек обезьян, человека и др.
- Перевиваемые – размножаются неопределенный длительный срок. Это опухолевые и эмбриональные клетки (HeLa, Нер и др.).
- Полуперевиваемые – выдерживают до 50 пассажей. Это диплоидные клетки эмбриона человека.

- Индикация вирусов – это обнаружение вирусов в исследуемом материале без установления их принадлежности к семейству, роду, виду или сероварианту.
-



Индикация вирусов

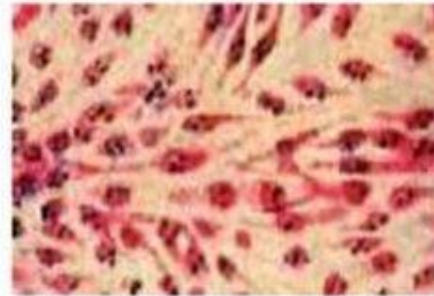
- В культуре клеток – цитопатическое действие (ЦПД), внутриклеточные включения, тест негативных колоний (бляшки под агаром), реакция гемадсорбции, цветная проба.
- В курином эмбрионе – участки некроза на хорионаллантоисной оболочке, гибель эмбриона, реакция гемагглютинации с амниотической и аллантоисной жидкостью.
- В организме лабораторных животных – заболевание и гибель животных.

Индикация вирусов

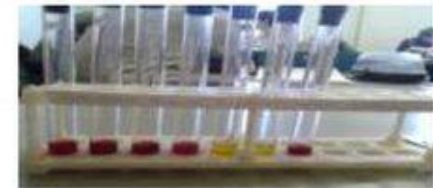
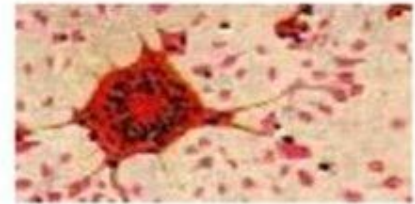
- 1. цитопатическое действие
- 2. образование в клетках включений;
- 3. образование бляшек;
- 4. феномен гемадсорбции
- 5. «цветная» проба.

ЦПД - видимые под микроскопом морфологические изменения клеток (вплоть до их отторжения от стекла), возникающие в результате внутриклеточной репродукции вирусов

Культура клеток



ЦПД вируса



Индикация вирусов

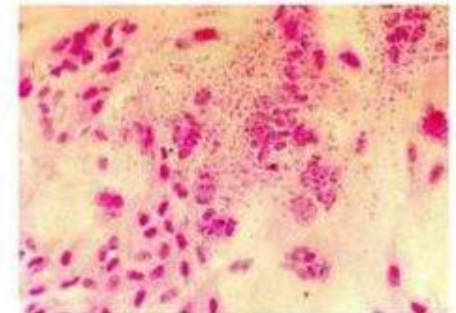
Тельца Гварниери



Включения - скопление вирионов или отдельных их компонентов в цитоплазме или ядре клеток, выявляемые под микроскопом при специальном окрашивании. Вирус натуральной оспы образует цитоплазматические включения - **тельца Гварниери**;



Реакция гемадсорбции = РГАдс =
способность культур клеток, инфицированных вирусами, адсорбировать на своей поверхности эритроциты.



Культивирование вирусов в курином эмбрионе

Куриный эмбрион - удобная модель для культивирования вирусов, т.к. полости его стерильны, защищены твердой оболочкой

Индикация вируса в курином эмбрионе:

- ❧ гибель эмбриона
- ❧ помутнение хорион-аллантоисной оболочки
- ❧ образованию бляшек на оболочке
- ❧ РГА (реакция гемагглютинации под действием гемагглютинина вирусов)

Культивирование вирусов в организме лабораторных животных

- Если при первичном заражении животные не заболевают → последовательные **«пассажи»**.
- **Индикация:** развитие типичных признаков заболевания, патоморфологические изменения органов и тканей животных или положительная **реакция гемагглютинации (РГА)**.

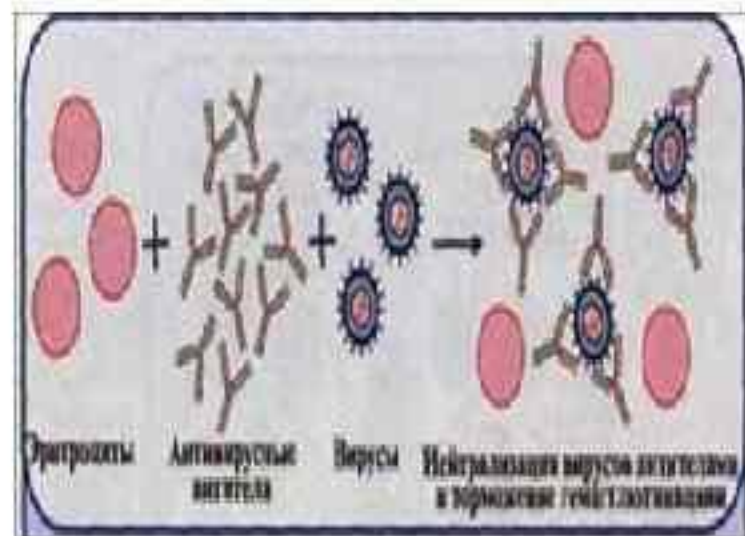
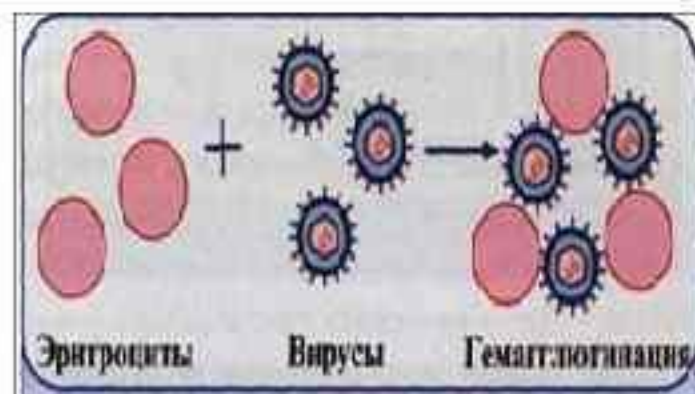


- Идентификация вирусов – это установление их вариантной, видовой, родовой и семейственной принадлежности. Идентификация вирусов проводится по принципу: определение неизвестного по известному. Известным компонентом при идентификации вирусов являются специфические противовирусные сыворотки (противогриппозные, противокоревые и др.), которые используют в серологических реакциях нейтрализации (РН), торможения гемадсорбции (РТГадс), торможения гемагглютинации (РТГА), РПГА, РСК, а также при ИФА и РИА. Эти сыворотки содержат специфические противовирусные антитела и называются диагностическими.

Идентификация вирусов в иммунных реакциях.

РЕАКЦИИ НЕЙТРАЛИЗАЦИИ – потеря инфекционности вируса в результате взаимодействия вируса со специфическими АТ.

Способность АТ связывать различные вирусы и нейтрализовать их, лишая возможности агглютинировать эритроциты. РН применяют для диагностики вирусных инфекций, идентификации вирусов по их гемагглютиниnam, проявляющим свойства Аг.

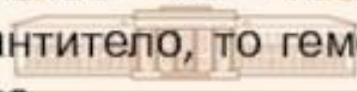


Методы идентификации вирусов:

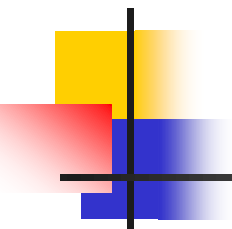
Реакция связывания комплемента

Реакция протекает в две фазы.
Первая фаза - взаимодействие антигена и антител при обязательном участии комплемента.

Вторая - выявление результатов реакции при помощи индикаторной гемолитической системы (эритроциты барана и гемолитическая сыворотка). Разрушение эритроцитов гемолитической сывороткой происходит только в случае присоединения комплемента к гемолитической системе. Если же комплемент адсорбировался ранее на комплексе антиген-антитело, то гемолиз эритроцитов не наступает.



Заключение



- Физиология микроорганизмов изучает процессы обмена, питания, дыхания, роста и размножения.
- В основе жизненных функций лежит непрерывный обмен веществ (метаболизм), состоящий из двух противоположных процессов: анаболизм и катаболизм.
- Анаболизм, или конструктивный метаболизм – это процесс питания, в ходе которого бактерия получает из окружающей среды компоненты, необходимые для построения ее органоидов.
- Катаболизм, или энергетический метаболизм – это процесс дыхания, при котором происходит процесс расщепления органических веществ в реакциях окисления-восстановления и получение энергии.
- Культивирование, или выращивание, микробов возможно лишь при создании определенных условий для их жизнедеятельности.
- Большинство бактерий и грибов культивируют на искусственных питательных средах.
- Вирусы размножаются только в культуре тканей, курином эмбрионе или в организме животного.



Спасибо
за внимание!