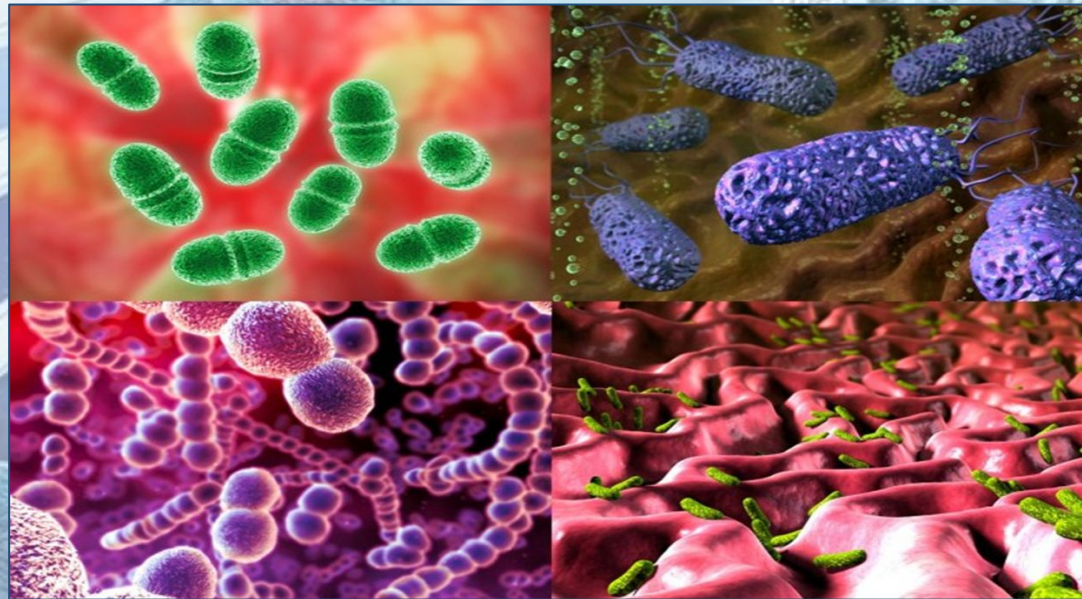
The background features a variety of microscopic organisms and chemical structures. On the left, there are chains of spherical bacteria, some with flagella. In the center and right, there are larger, more complex spherical structures, possibly spores or specialized cells, with intricate surface patterns. Faint chemical formulas like CH₃ and NH₂ are scattered throughout the scene, which is set against a blue and white bokeh background.

Физиология бактерий, методы ее изучения

ОМИ, 4-5 лекции

Физиология микроорганизмов – 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.***

Бактери

и

Характерные признаки	Особенности проявления признаков
Среда обитания	Распространены повсеместно: в атмосфере, гидросфере, литосфере, в организмах людей, животных, растений. (В 1 г почвы — до 2 млрд, в 1 см ³ молока — до 1 млн, в 1 м ³ городского воздуха летом — до 25 тыс., зимой — до 5 тыс.)
Основные формы бактериальных клеток	 <p>кокки бациллы вибрионы спирохеты спириллы</p>
Строение бактериальной клетки	Плотная оболочка — клеточная стенка — окружает снаружи бактериальную клетку, опорным каркасом служит гликопептид — муреин. В цитоплазме: рибосомы (до 10 000 на клетку), впячивания цитоплазматической мембраны, выполняющие функции многих органоидов; включения, содержащие запасные питательные вещества. Прокариоты. Спора — состояние бактерии в неблагоприятных условиях
Генетический материал бактерий	Носитель наследственных свойств ДНК (часто замкнутая в виде кольца) или РНК. Не образует оформленного ядра
Размножение бактерий	Путем деления, которое наступает после удвоения бактериальной хромосомы — кольцевидной ДНК. Половой процесс — в форме обмена генетическим материалом между особями

Формы бактерий

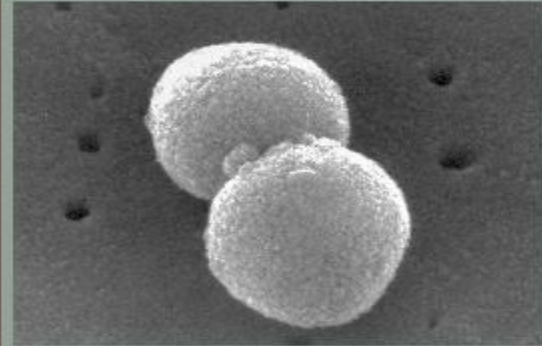
Палочки, или бациллы



Шаровидные бактерии
(кокки)



Диплококки



Стрептококки



Стафилококки



Сарцины



ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ БАКТЕРИАЛЬНОЙ КЛЕТКИ

- **вода** -до 80% массы. Высушивание клетки приостанавливает процессы метаболизма и размножения, но не убивает её.
- **белки** – 40-80% сухой массы бактерий. Они участвуют в процессах метаболизма, обладают ферментативной активностью. Белки обладают антигенными и иммуногенными свойствами, вирулентностью и видовой принадлежностью.
- **нуклеиновые кислоты** 10-30% сухой массы. ДНК определяет наследственность. РНК-информационная, матричная, транспортная, рибосомальная. Участвуют в биосинтезе белка.
- **углеводы** – моно- и дисахариды составляют 12-18% сухой массы. Полисахариды часто входят в состав капсул. Крахмал и гликоген являются запасными питательными веществами.
- **липиды** входят в состав цитоплазматической мембраны и ее производных. В цитоплазме откладываются на запас. Липиды представлены фосфолипидами, жирными кислотами и глицерином.
- **минеральные вещества** – 2-14% сухой массы.(Фосфор, калий, натрий, сера, железо, кальций, магний, а так же микроэлементы-цинк, медь, кобальт, барий, марганец). Они участвуют в регуляции осмотического давления, окислительно - восстановительных реакциях, активируют ферменты и входят в состав витаминов.

Ферменты бактерий

Ферменты – это высокомолекулярные соединения белковой природы, которые являются катализаторами (т. е. оказывают влияние на скорость протекающей реакции).

Свойства ферментов:

Небольшое количество катализатора обеспечивает превращение большого количества субстрата, оставаясь при этом в свободном состоянии.

Для ферментов характерна высокая специфичность действия.

Ферменты, синтезируемые микробной клеткой, способны действовать, будучи выделенными из нее.

Группы ферментов: *экзоферменты* (действуют вне клетки)

и *эндоферменты* (действуют в самой клетке)

Экзоферменты – это ферменты, не связанные с цитоплазмой клетки, они свободно выделяются во внешнюю среду или субстрат

Чаще всего они участвуют в питании микроорганизмов

Эндоферменты – это ферменты, которые прочно связаны с цитоплазмой клетки, они осуществляют свою деятельность внутри клетки

Чаще всего они участвуют в обмене веществ. Для их выделения клетку предварительно нужно разрушить

Биохимические свойства бактерий определяются составом ферментов:

1. *протеолитические* – расщепление белков
2. *липолитические* – расщепление жиров
3. *сахаролитические* – расщепление углеводов

Классификация ферментов

- ▣ **Оксидоредуктазы** — ферменты, катализирующие окислительно-восстановительные реакции. Играют большую роль в процессах биологического получения энергии.
- ▣ **Трансферазы** — ферменты, катализирующие перенос отдельных радикалов, частей молекул или целых атомных группировок (не водорода) от одних соединений к другим.
- ▣ **Гидролазы** — ферменты, катализирующие реакции расщепления и синтеза таких сложных соединений, как белки, жиры и углеводы, с участием воды.

Классификация ферментов (продолжение)

- **Лиазы** — ферменты, катализирующие отщепление от субстратов определенных химических групп с образованием двойных связей или присоединение отдельных групп или радикалов по двойным связям.
- **Изомеразы** — ферменты, осуществляющие превращение органических соединений в их изомеры. Изомеризации подвергаются углеводы и их производные, органические кислоты, аминокислоты и т. д. Ферменты этой группы играют большую роль в ряде процессов метаболизма.
- **Лигазы** — ферменты, катализирующие синтез сложных органических соединений из простых.

Питание бактерий

Особенности питания бактериальной клетки состоят в поступлении питательных субстратов внутрь через всю ее поверхность.

Микроорганизмы для питания используют самые разнообразные вещества. Для них необходимы минеральные вещества (сера, фосфор, калий, кальций, магний, железо) и органогены, т. е. элементы, входящие в органические соединения (кислород, водород, углерод и азот). Кроме того, в очень малых количествах. Для нормального развития микроорганизмов требуются микроэлементы (цинк, бор, кобальт, марганец), которые содержатся в водопроводной воде и минеральных солях

Способы питания бактерий

Автотрофы

(Использующие для построения своих клеток углекислый газ)

Гетеротрофы

(Питаются готовыми органическими соединениями)

Паразиты

(бактерии, существующие за счет органических веществ живых клеток и тканей, вызывающие заболевания у человека или животного)

Фототрофы

(фотосинтезирующие бактерии)

Хемотротрофы

(бактерии, синтезирующие химическую энергию)

Сапрофиты

(утилизирующие органические остатки отмерших организмов)

Дыхание бактерий

- **облигатные аэробы** (к примеру, нейссерии, синегнойная палочка) растут только при наличии кислорода
- **облигатные анаэробы** могут расти только без кислорода (пептострептококки, вейллонеллы, бактериоиды фузобактерии, анаэробоспириллы)
- **факультативные аэробы и анаэробы** могут существовать как в присутствии кислорода, так и без него
- **аэротолерантные микробы** (к примеру спорообразующие анаэробные палочки - клостридии газовой гангрены, столбняка). - это анаэробные бактерии, устойчивые к кислороду, которые не размножаются в присутствии кислорода, но и не погибают
- **микроаэрофилы** (стрептококки, актиномицеты и некоторые бациллы полости рта) представляют из себя небольшую группу факультативно-анаэробных бактерий, устойчивых к действию кислорода в небольших концентрациях (до 5-10%)
- **капнофилы** (возбудители бруцеллеза, стрептококки полости рта) нуждаются в избыточном количестве углекислого газа (до 20%)

Дыхание бактерий

Если донорами и акцепторами водорода являются органические соединения, то такой процесс называется **брожением**. При брожении происходит ферментативное расщепление органических соединений (преимущественно углеводов) в анаэробных условиях. По конечному продукту расщепления углеводов различают спиртовое, молочнокислое, уксусно-кислое и другие виды брожения

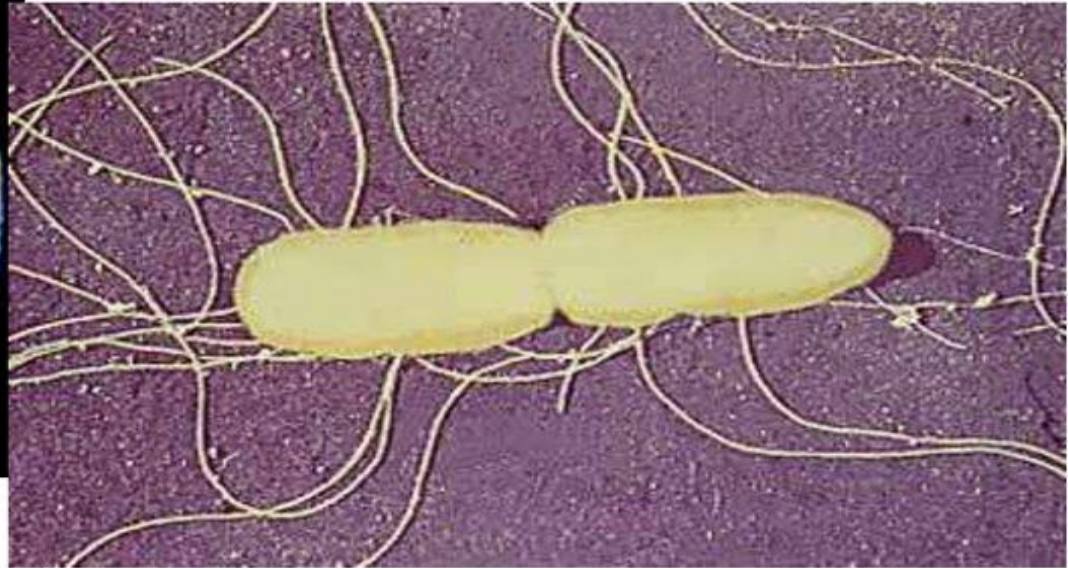
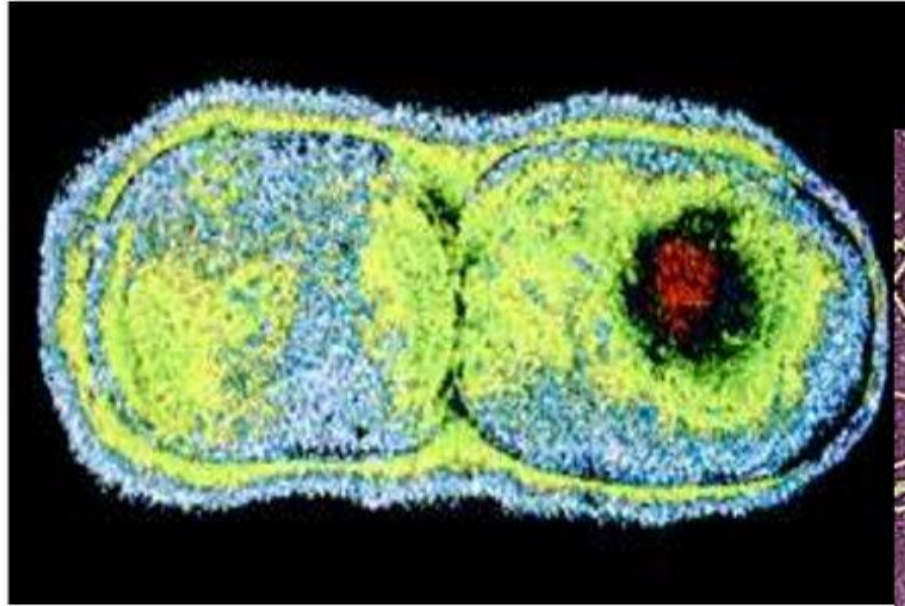
Рост и размножение бактерий

- Бактерии размножаются **бинарным делением**, реже почкованием, актиномицеты – спорами и фрагментацией
- **Грамотрицательные бактерии** делятся путем перетяжки
- **Грамположительные бактерии** делятся путем врастания синтезирующихся перегородок деления внутрь клетки



РОСТ И РАЗМНОЖЕНИЕ БАКТЕРИЙ

- Большинство прокариот размножаются бинарным делением пополам, реже почкованием и фрагментацией.

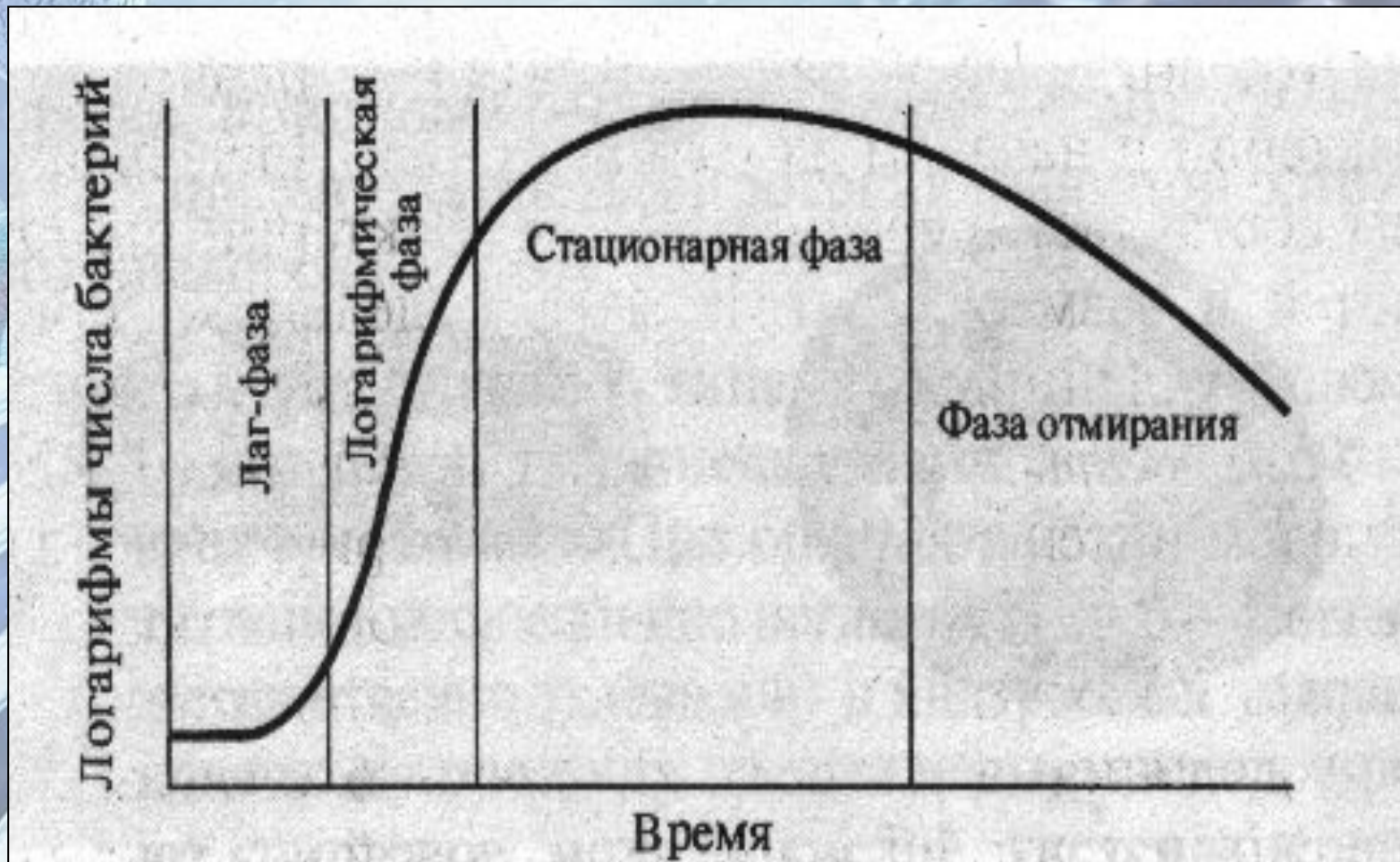


- Бактерии, как правило, характеризуются высокой скоростью размножения. Время деления клетки у различных бактерий колеблется довольно в широких пределах: от 20 минут у кишечной палочки до 14 часов у микобактерий туберкулеза.

Фазы размножение бактерий

Рост периодической культуры бактерий подразделяют на несколько фаз, или периодов:

- 1) лаг-фаза
- 2) фаза логарифмического роста
- 3) фаза стационарного роста, или максимальной концентрации бактерий
- 4) фаза гибели



Классификация питательных сред

Среды различаются:

- 1) **по консистенции** - плотные, полужидкие и жидкие
- 2) **по составу** - простые, сложные
- 3) **по источнику** - естественные и синтетические (искусственные)
- 4) **по назначению** - специальные, селективные и дифференциально-диагностические, транспортные, обогащения



Условия культивирования бактерий

Различные группы микроорганизмов размножаются при определенных диапазонах **температур**. Бактерии, растущие при низких температурах, называются психрофилами, при средних (около **37°C**) – **мезофилами**, при высоких – термофилами

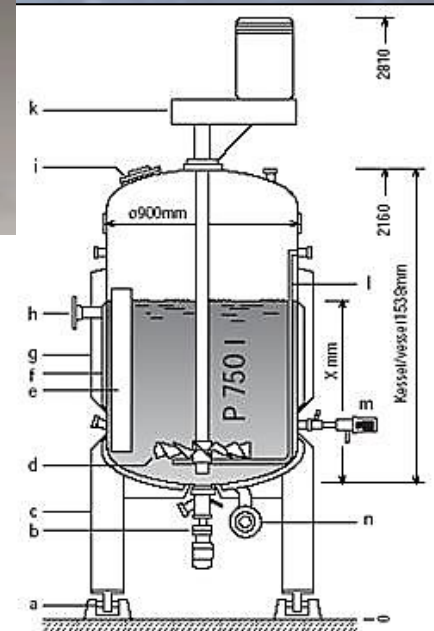


Условия культивирования бактерий

- **pH** – большинство растет при pH 7, многие бактерии растут в пределах от 6 до 9.
- **Относительная влажность.** Микроорганизмы способны расти при относительной влажности от 0,998 до 0,6. Для большинства – превышает 0,98.
- Для облигатных аэробов в необходим молекулярный **кислород**. Увеличение поверхности раздела:
 - 1) культивирование в тонком слое;
 - 2) перемешивание жидкости путем встряхивания;
 - 3) вращение лежащих сосудов вокруг продольной оси;
 - 4) пропускание воздуха через жидкость под давлением и др.
- При выращивании строго анаэробных культур бактерий необходимо исключить доступ кислорода.

Методы промышленного культивирования бактерий

- Биореакторы (ферментеры).
- В качестве питательных сред используют дешевое, сырье (рыбно-костную муку, отходы сахарного производства, дрожжевой экстракт).
- Из 1 т культуры за это время получается примерно 50 кг биомассы.
- Высокопродуктивные промышленные штаммы микроорганизмов.
- Из культуральной жидкости выделяют и концентрируют биомассу бактерий с помощью различных методов (сепарирование, центрифугирование, седиментация, выпаривание, ультрафильтрация, хроматография).

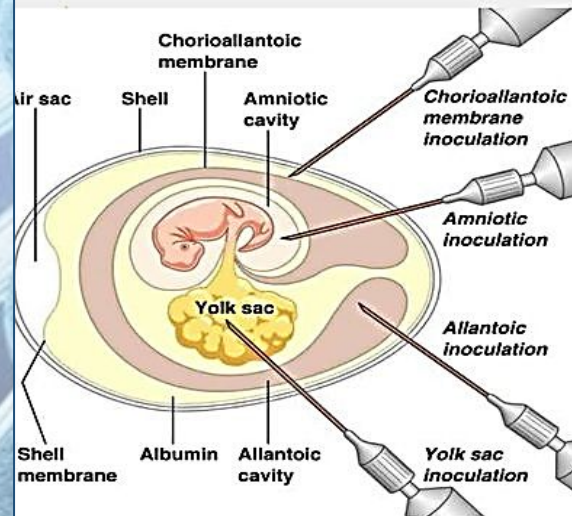


культивирования риккетсий и хламидий

- Риккетсии и хламидии – облигатные внутриклеточные паразиты.
- Для их культивирования применяют куриные эмбрионы, культуры клеток и чувствительных животных.
- Риккетсии можно культивировать путем инфицирования ими переносчиков возбудителя инфекций – вшей, блох, клещей.

Культивирование риккетсий

- ▶ Риккетсии не растут на классических питательных средах, их культивируют
- ▶ в желточном мешке куриного эмбриона



- ▶ и в некоторых линиях клеток членистоногих или млекопитающих.



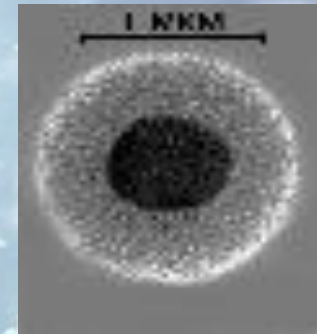
МИКОПЛАЗМ

- Факультативные анаэробы.
- В питательные среды добавляют: сыворотку, холестерин, нуклеиновые кислоты, углеводы, витамины и различные соли.
- На плотных средах на 5-7 сутки образуют мелкие колонии – **«яичница глазунья»**.
- На жидких средах дают очень незначительное помутнение или опалесценцию; некоторые – тончайшую жирную пленку. Чаще всего рост наблюдается у стенок и на дне сосуда.
- Для первичного выделения также пригодны куриные эмбрионы и культуры клеток.

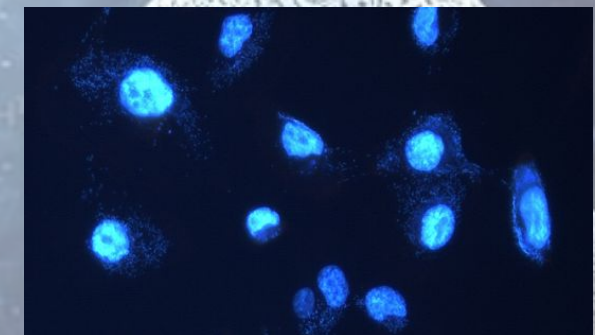
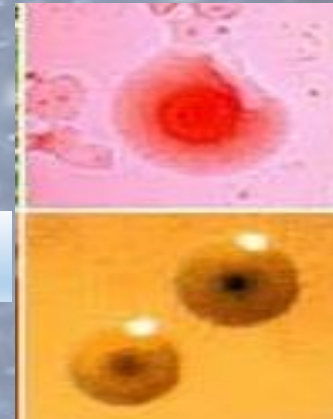


Особенности культивирования МИКОПЛАЗМ

- В связи с морфологическими особенностями микоплазмы не удается окрашивать анилиновыми красителями, и их изучают в нативных препаратах в фазово-контрастном микроскопе.
- Для выявления микоплазм в культуре зараженных клеток активно применяются красители, образующие флуоресцентные комплексы с ДНК, например, 4',6-диамидино -2-фенилиндол (DAPI).
- При культивировании микоплазмы даже при использовании самых богатых питательных сред растут очень медленно (видимый рост через 2-4 недели), колонии на твердой питательной среде имеют характерный вид: их центральная зона утолщена и проникает вглубь агара, а периферическая часть тонкая и расположена на поверхности.



Колонии микоплазм



Культура клеток, инфицированных микоплазмами

Особенности культивирования спирохет

- Спирохеты хемоорганотрофы, среди них есть аэробные, факультативно анаэробные и облигатно анаэробные бактерии.
- *Treponema pallidum* – чрезвычайно прихотлива и практически не растет на искусственных питательных средах.
- **Боррелии** – строгие анаэробы, растут при температуре 20-37 °С (оптимум 28-30 °С) на средах, дополненных животными белками, и на куриных эмбрионах. 2-3 нед.
- **Лептоспиры** – хемоорганотрофы, строгие анаэробы, растут при 28-30 °С, рН 7,2-7,4 на жидких и полужидких средах с добавлением сыворотки кролика, рост наблюдается на 5-8 сут инкубирования (иногда на 21-25 сут).