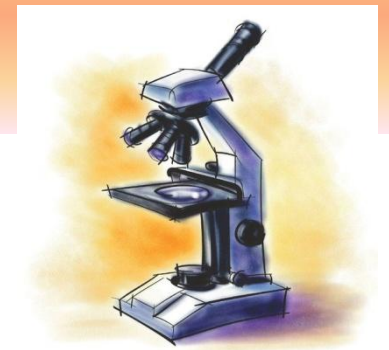




# Основы микробиологии и иммунологии

Группы 112а,б,в, 115 а,б



# Проверка знаний:

	1 вар.	2 вар.
I.	Патогенность это...	Вирулентность это...
II.	Асептика это...	Антисептика это...
III.	По материалам 4 лекции (гельминтозы):	
	Факторы передачи при геогельминтозах это:	Для какого гельминтоза характерны зуд в области заднего прохода, усиливающийся в ночное время, факторы передачи - постельное белье, игрушки, грязные руки:
a.	плохо проваренное, прожаренное, просоленное мясо животных или сырая рыба	a. Энтеробиоз
b.	игрушки, посуда, постельное бельё	b. Филяриоз
c.	передача с укусами насекомых	c. Эхинококкоз
d.	загрязнённые яйцами или личинками паразитов почва, вода, грязные руки	d. Гименолепидоз

# Физиология и биохимия микроорганизмов

(6 лекция)

# Физиология микроорганизмов

1. Классификация микроорганизмов по физиологическим особенностям
2. Понятие о чистой культуре, штамме
3. Бактериологический метод
4. Классификация питательных сред
5. Дифференциально-диагностические среды для определения видовой принадлежности микробов и изучения их свойств.

# Метаболизм

- В биохимическом отношении все живые существа на Земле сходны (принцип биохимического единства А. Клейвера) – вся совокупность химических реакций в клетке (метаболизм) подчиняется этому принципу.
- **Катаболизм**-это все реакции, приводящие к **расщеплению** и окислению веществ **с получением энергии**. **Анаболизм** – пути, приводящие к **синтезу** основных сложных веществ.
- Метаболизм МО разнообразен: питательными веществами выступают различные органические и минеральные соединения.
- Поступление в бактериальную клетку посредством диффузии, облегченной диффузии (белки-переносчики), активного транспорта (пермеазы).

# Химический состав бактериальной клетки

- На 80-90% клетка бактерии состоит из воды, остальное – сухое вещество, из которого 52% - белки, 17% - углеводы, 9% липиды, 16% РНК, 3% ДНК и 3% минеральные вещества.
- Биогенные элементы:
  1. С - углерод (50% доля по массе)
  2. N - азот (14%)
  3. H - водород
  4. O - кислород
  5. P - фосфор (3%)
- Макроэлементы (K, Mg, Na, Ca, Fe, S, Mn) и микроэлементы (Zn, Cu, Co, Ba), ростовые вещества (**прототрофы** – не нуждаются в факторах роста, **ауксотрофы** – требуют добавления в среду культивирования факторов роста, чаще всего это витамины).

- **Автотрофы** – могут синтезировать органические соединения из неорганических (из  $\text{CO}_2$  и воды), используя дополнительные источники энергии.
- **Гетеротрофы** – используют в качестве источника энергии готовые органические вещества (питательные), живут за счет автотрофных организмов и их биосинтетических процессов.

Белки, жиры, углеводы и нуклеиновые кислоты синтезируются из мономеров с поглощением энергии. Энергия запасается бактериями в форме молекул АТФ (аденозинтрифосфорной кислоты) - универсального аккумулятора химической энергии.

Фототрофы – используют свет в качестве источника энергии.

Хемотрофы – используют энергию окислительно-восстановительных реакций.

Литотрофы – используют неорганические доноры электронов.

Органотрофы - используют органические соединения как доноры электронов.

# В медицинской микробиологии изучаются

## гетерохемотрофы:

Источник энергии	Донор электронов	Источник углерода	
		Гетеротрофы (орг. вещества)	Автотрофы (CO <sub>2</sub> )
Свет «фото-»	Органические вещества «органо-»	Пурпурные несерные бактерии	Окисление неусваиваемых веществ
	Неорганические вещества «лито-»	Некоторые зеленые бактерии, гелиобактерии	Водоросли, цианобактерии
Энергия химических связей «хемо-»	Органические вещества «органо-»	Микроорганизмы-деструкторы	Трудноусваиваемые вещества
	Неорганические вещества «лито-»	Некоторые сульфатредукторы	Серуоокисляющие, водородные, нитрифицирующие, железобактерии



# Классификация бактерий по способу питания

(пояснения к таблице)

## 1. По источнику углерода

Автотрофы используют углерод неорганических соединений, чаще всего  $\text{CO}_2$

Гетеротрофы нуждаются в готовых органических соединениях. Гетеротрофы делятся на – сапрофиты (развиваются на мертвой органической материи) и – паразиты (нуждаются в живой органической материи).

## 2. По источнику энергии

Фототрофы – используют энергию солнечного света

Хемотрофы – используют энергию химических реакций

## 3. По донору электронов

Литотрофы – источник электронов – неорганические соединения

Органотрофы – источник электронов – органические вещества

**Гетерохемоорганотрофы** – источник углерода у них является и источником энергии.

- Сапрофиты – питаются мёртвым органическим материалом.
- Паразиты – зависят в получении питательных веществ от макроорганизма.
- Среди паразитов различают облигатные и факультативные. Облигатные паразиты полностью лишены возможности жить вне клеток макроорганизма. К ним относятся представители родов *Rickettsia*, *Chlamydia* и др., размножающиеся только внутри клеток макроорганизма. Факультативные паразиты могут жить и без хозяина и размножаться, так же как и сапрофиты, в т. ч. на питательных средах *in vitro*, т.е. вне организма.

# Получение энергии бактериями:

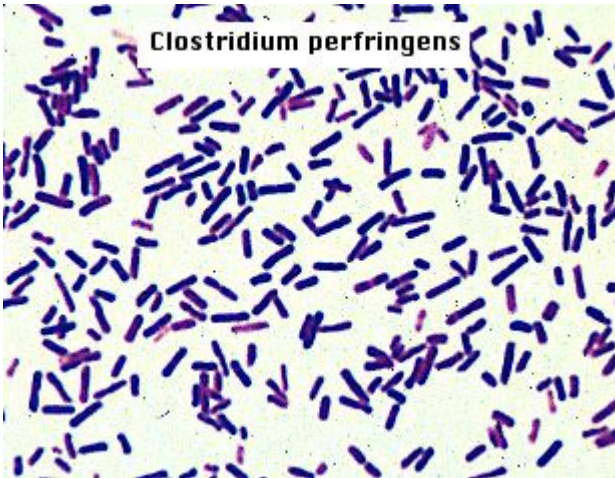
При окислительно-восстановительном процессе электроны переносятся от донора к акцептору. При этом выделяется энергия, синтезируется АТФ, а перенос электронов осуществляют дыхательные ферменты, формирующие т.называемую дыхательную цепь. Конечные продукты дыхания: углекислый газ и вода.

У бактерий выделяют 2 механизма дыхания:

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

В зависимости от характера дыхания/отношения к  $O_2$  проводится классификация бактерий по типу дыхания:

1. Облигатные (строгие) аэробы: 21% кислорода в атмосферном воздухе.
2. Облигатные (строгие) анаэробы: развиваются в бескислородных условиях. Облигатными аэробами могут быть возбудители столбняка, газовой гангрены.
3. Факультативные анаэробы (или аэробы).
4. Микроаэрофилы – нуждаются в пониженном содержании кислорода – молочнокислые бактерии. Аэротолерантные - не нуждаются в кислороде, но переносят его в среде культивирования.
5. Капнофилы -ряд бактерий, лучше растущих в присутствии повышенных концентраций  $CO_2$ . Бактероиды, фузобактерии относятся к капнофилам, так как они лучше растут в атмосфере, содержащей 3-5%  $CO_2$



# Пример анаэробного микроорганизма:

Clostridium perfringens —  
КЛОСТРИДИУМ  
ПЕРФРИНГЕНС —  
анаэроб.  
Вызывает  
газовую  
гангрену.





# Газовая гангрена:

При ощупывании – крепитация, т.е. типичное похрустывание, как снег в мороз.

1.Симптом лигатуры — при наложении лигатуры на участок конечности очень быстро нить начинает впиваться в кожу.

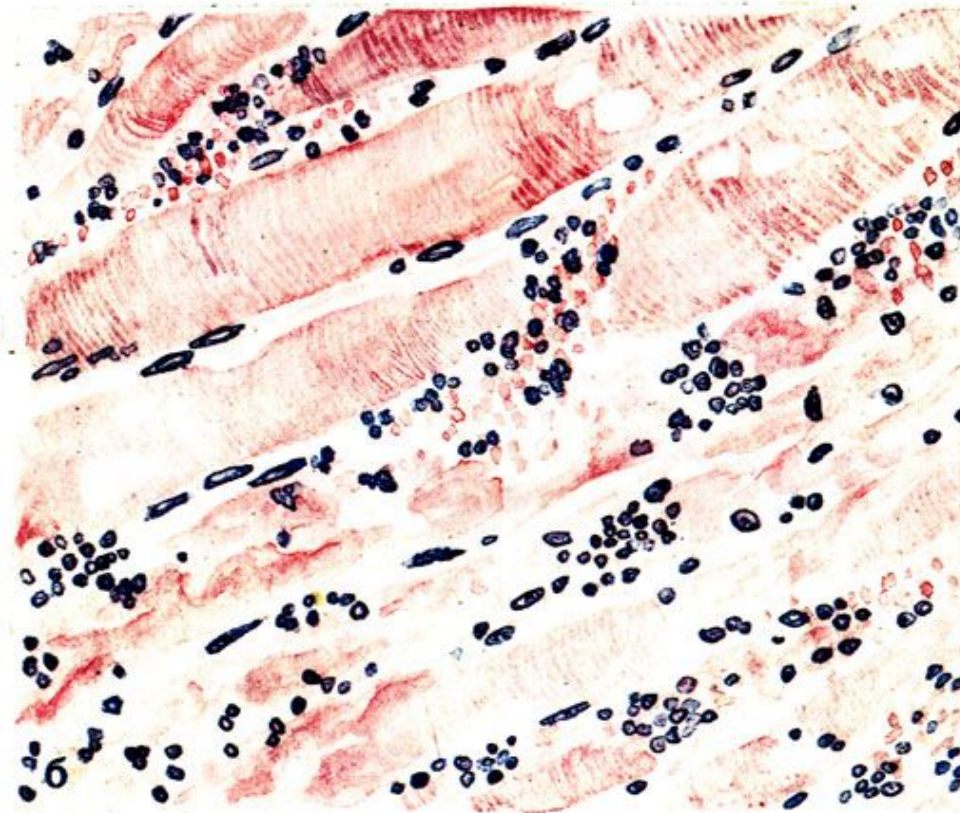
2.Симптом шпателя — при постукивании металлическим шпателем по поражённой области слышен характерный хрустящий, с тимпаническим оттенком звук.

3.Симптом пробки шампанского — при извлечении тампона из раневого хода слышен хлопок.

4. Межмышечные скопления газа на рентгеновском снимке визуализируются в виде



a

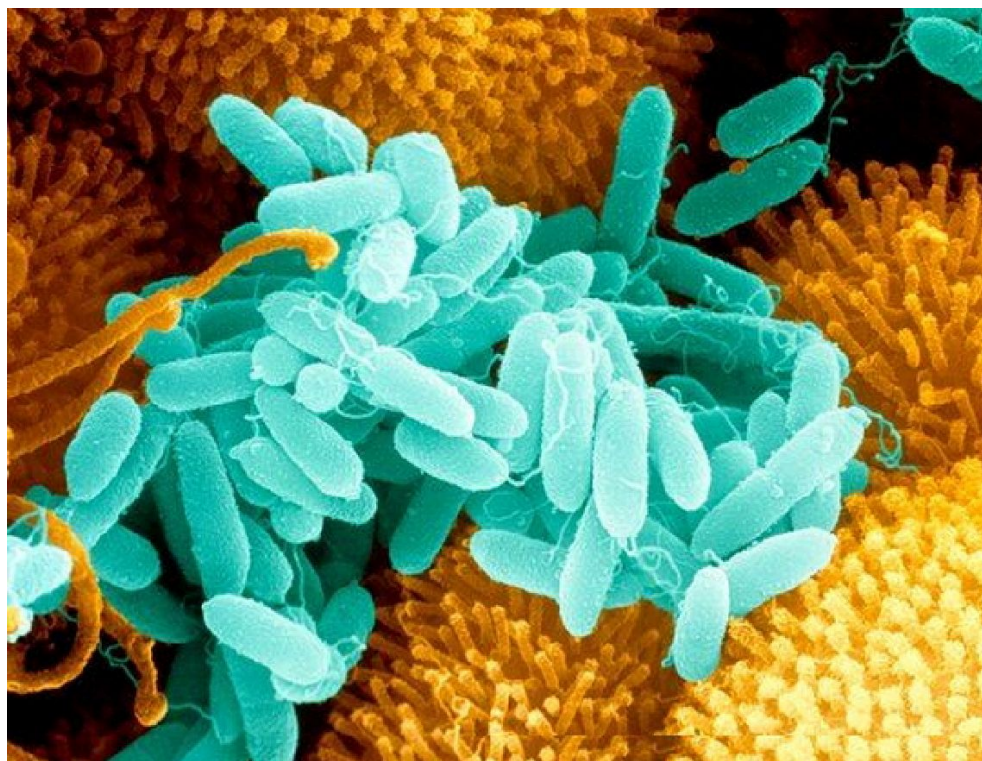


# Пример аэробного микроорганизма:

Синегнойная  
палчка -

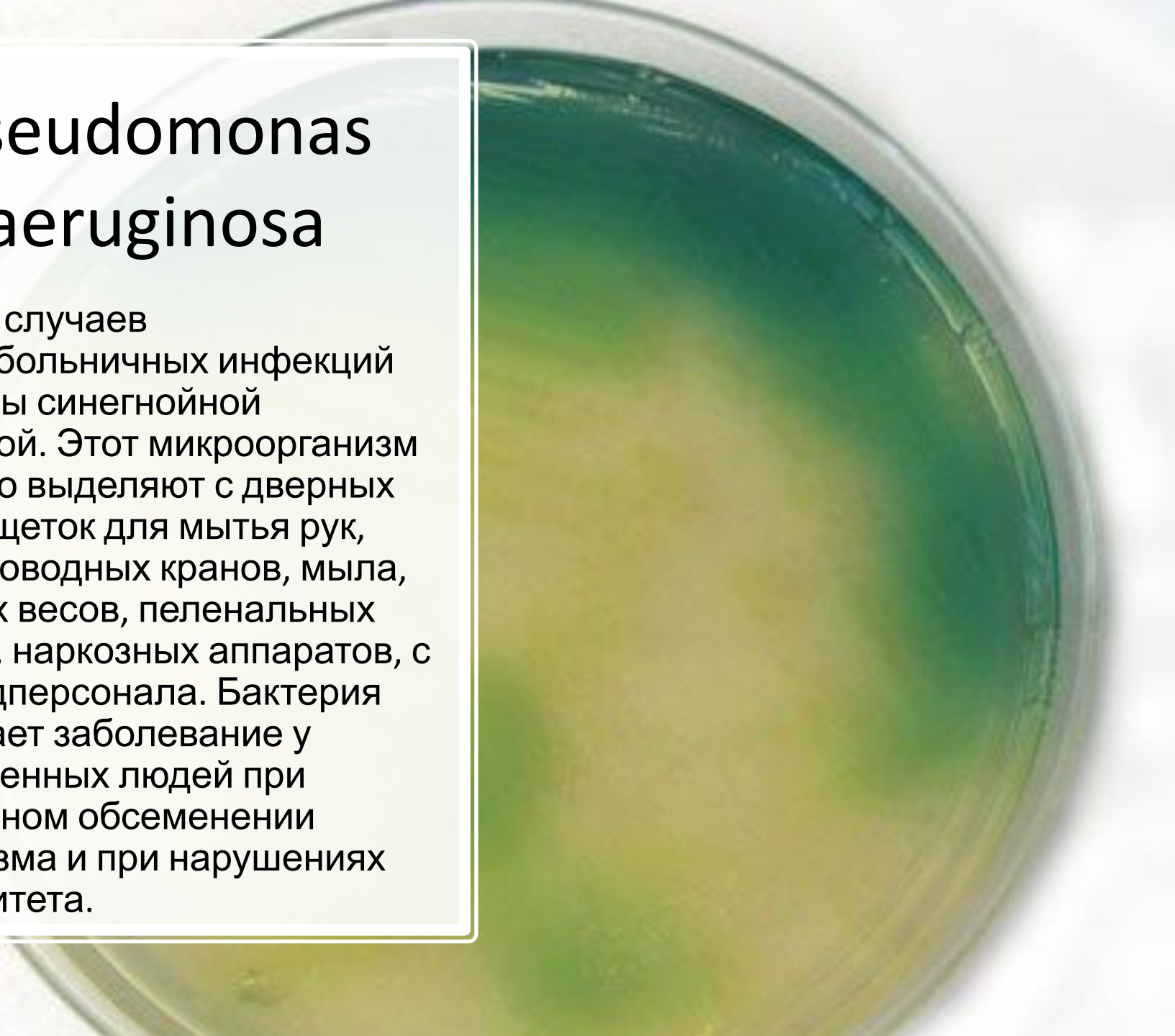
*Pseudomonas  
aeruginosa*.

Называется  
синегнойной, так  
как продуцирует  
специальный  
пигмент, который  
окрашивает  
питательную  
среду в сине-  
зеленый цвет



# Pseudomonas aeruginosa

До 50% случаев внутрибольничных инфекций вызваны синегнойной палочкой. Этот микроорганизм нередко выделяют с дверных ручек, щеток для мытья рук, водопроводных кранов, мыла, детских весов, пеленальных столов, наркозных аппаратов, с рук медперсонала. Бактерия вызывает заболевание у ослабленных людей при массивном обсеменении организма и при нарушениях иммунитета.



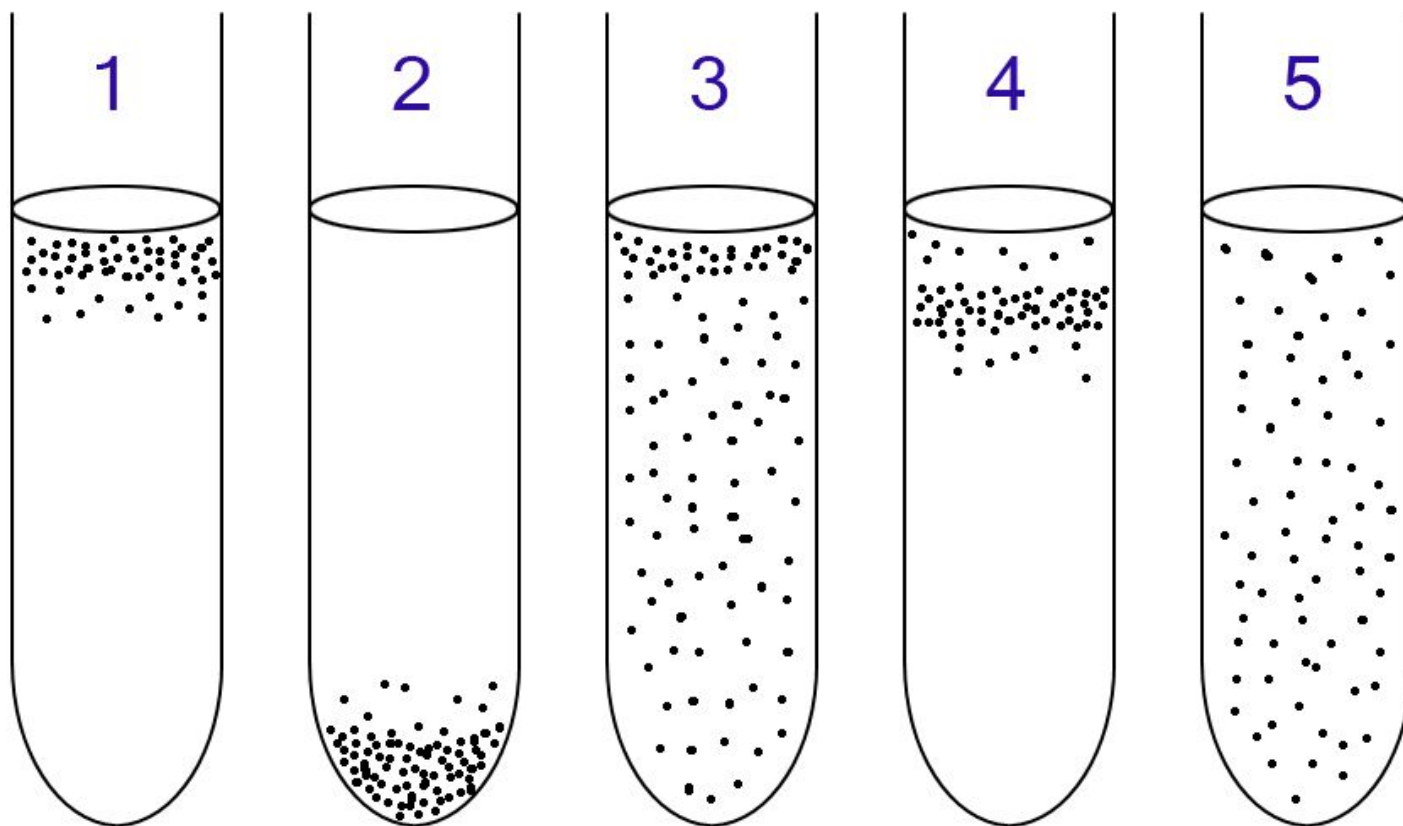


# Отношение микроорганизмов к молекулярному кислороду

**NB!**

Группа микроорганизмов	Отношение к кислороду O <sub>2</sub>	Тип метаболизма	Пример	Место обитания
<b>АЭРОБЫ</b>				
Облигатные	Требуют	Аэробное дыхание	<i>Micrococcus luteus</i>	Обитатель кожи здорового человека
Факультативные	Не требуют, но растут лучше	Аэробное или анаэробное дыхание или брожение	<i>E. coli</i>	Обитатель толстого отдела кишечника человека
Микроаэрофиллы	Требуют, но в концентрации ниже атмосферной	Аэробное дыхание	<i>Borrelia burgdorferi</i>	Возбудитель болезни Лайма у человека
<b>АНАЭРОБЫ</b>				
Аэротолерантные	Не требуют, рост не стимулирует	Брожение	<i>Streptococcus pyogenes</i>	Дыхательные пути здорового человека
Облигатные	Угнетает рост или приводит к гибели	Брожение и анаэробное дыхание	Метаногены, сульфидогены, ацетогены <i>C. botulinum</i>	Природные эпитопы (илы, болота и т.п.) В пищевых продуктах в анаэробных условиях.

Анаэробные и аэробные бактерии можно различить, выращивая их на жидкой питательной среде и наблюдая, какие зоны в пробирке они занимают. 1 — облигатный аэроб; 2 — облигатный анаэроб; 3 — факультативных анаэроб; 4 — микроаэрофил; 5 — аэротолерантная бактерия.



**Брожение или ферментация:** процесс получения энергии, при котором как донором, так и акцептором электронов служат органические вещества. Кислород участия в брожении не принимает. Продукты брожения: кислоты, газы, спирты. Соответственно им разделяют: спиртовое, молочнокислое, муравьинокислое, маслянокислое брожение.

**Спиртовое брожение** встречается в основном у дрожжей. Конечными продуктами являются этанол и  $\text{CO}_2$ . Спиртовое брожение используется в хлебопекарной промышленности и виноделии.

**Молочнокислое брожение** происходит у *S. pyogenes*, *E. faecalis*, *S. Salivarius*, а также у бактерий родов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*. Продуктами этого типа брожения являются молочная кислота, этанол и уксусная кислота. Продукты молочнокислого брожения играют большую роль в формировании колонизационной резистентности бактериями рода *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*, составляющих облигатную флору кишечника. Молочнокислые бактерии широко используются в молочной промышленности для получения молочнокислых продуктов, а также в создании пробиотиков.

**Муравьинокислое (смешанное) брожение** встречается у представителей семейств *Enterobacteriaceae* и *Vibrionaceae*. Различают два типа этого брожения. При первом происходит расщепление пирувата с образованием через цепь реакций муравьиной, янтарной и молочной кислот. Сильное кислотообразование можно выявить реакцией с индикатором метиленовым красным, который меняет окраску в сильноокислой среде. При втором типе брожения образуется целый ряд кислот, однако главным продуктом брожения являются ацетон и 2,3-бутандиол, образующиеся через цепь реакций из двух молекул пирувата. Эти вещества при взаимодействии с  $\alpha$ -нафтолом в щелочной среде вызывают образование окраски бурого цвета, что выявляется реакцией Фогеса-Проскауэра, используемой при идентификации бактерий.

**Маслянокислое брожение.** Масляная кислота, бутанол, ацетон, изопропанол и ряд других органических кислот, в частности уксусная, капроновая, валериановая, пальмитиновая, являются продуктами сбраживания углеводов сахаролитическими строгими анаэробами. Спектр этих кислот, определяемый при помощи газожидкостной хроматографии, используется как экспресс-метод при идентификации анаэробов.

**Ферментация белков.** Если для бактерий с бродильным метаболизмом источником энергии служат белки, то такие бактерии называются пептолитическими. Пептолитическими являются некоторые клостридии, в частности *C. histolyticum* и *C. botulinum*. Пептолитические бактерии гидролизуют белки и сбраживают аминокислоты. Многие аминокислоты сбраживаются совместно с другими, при этом одна выполняет функцию донора, а другая - функцию акцептора водорода. Аминокислота-донор дезаминируется в кетокислоту, которая в результате окислительного декарбоксилирования превращается в жирную кислоту.

# Питательные среды: история



- В 1883 году Р. Кох разработал метод выделения чистых культур микробов путем посева на пластинки желатина.
- Другой состав плотной питательной среды, который используется до сих пор, предложил в 1884 году немецкий микробиолог В. Хессе. Основным компонентом этой среды был агар-агар, который его жена использовала для приготовления фруктового желе.
- Осталось только найти форму, в которую удобно заливать плотные питательные среды, и наблюдать за ростом микробов. Такая форма в виде донышка, отрезанного от лабораторной бутылки, была предложена в 1887 году Ю. Петри и получила название - чашка Петри. Эти открытия положили основу для разработки, а затем промышленного выпуска и широкого практического использования жидких, полужидких и плотных питательных сред. Эти среды и чашки Петри до сих пор являются неотъемлемым атрибутом каждой микробиологической лаборатории.
- В 1905 году бактериолог А. Мак-Конки разработал первую хромогенную (от chroma (chromatos) - цвет и genes – порождающий) среду. Принцип действия хромогенных питательных сред заключается в образовании окрашенных веществ (индикаторов) в результате взаимодействия высокоспецифичных ферментов бактерий с компонентами среды.

# Питательные среды для выращивания бактерий

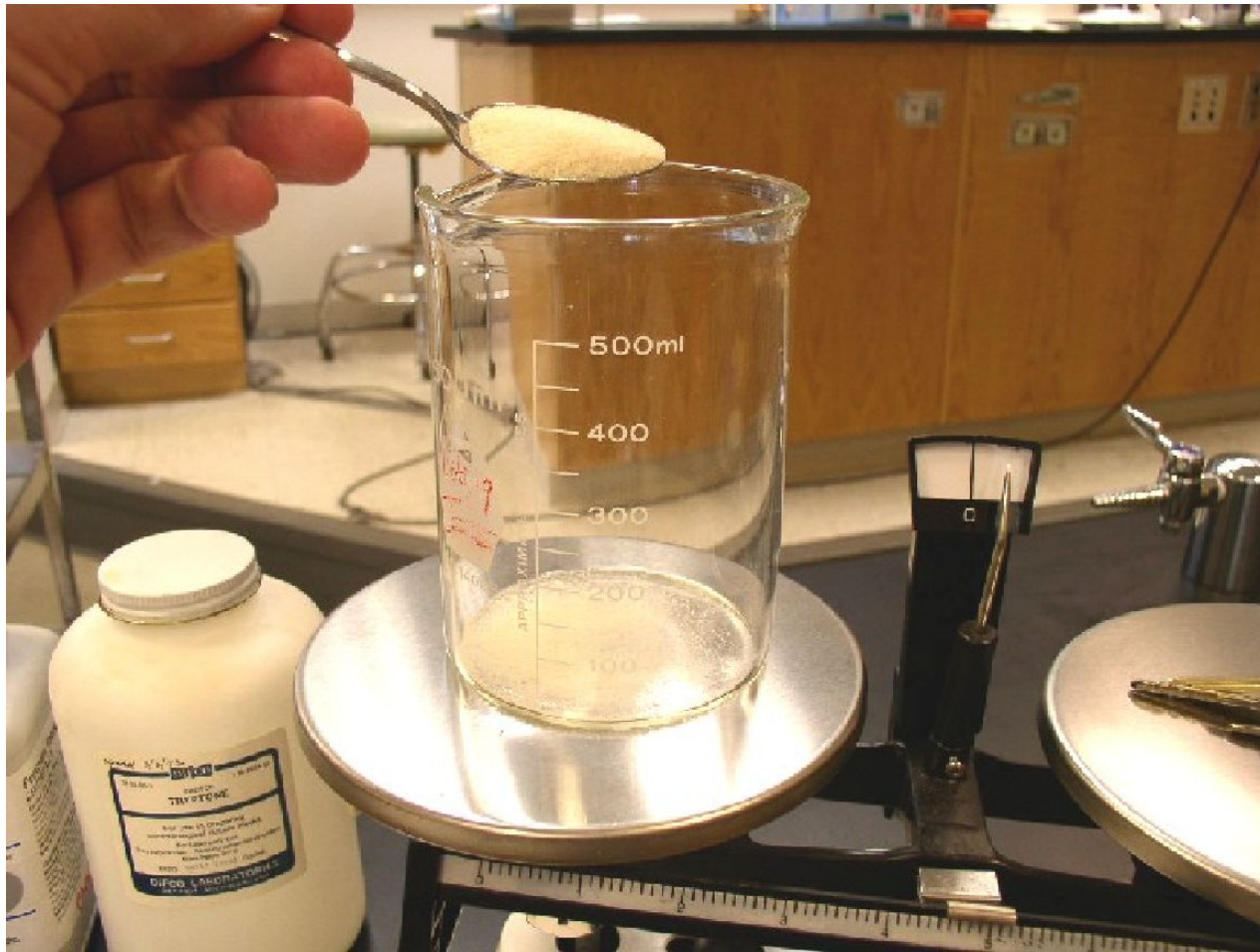
Источниками биогенов, других элементов, ростовых и питательных веществ служат :

- Мясо
- Рыба, рыбная мука
- Овощи (картофель)
- Дрожжи
- Молоко
- Яйца
- Кровь
- Химические соединения

Из них готовят настои и экстракты (мясная вода, дрожжевой экстракт) – источники факторов роста, ферментативные и кислотные гидролизаты (пептон, перевар Хоттингера, перевар казеина и т.п.) – источники аминокислот и жр.органических питательных веществ.



# Приготовление питательной смеси в лаборатории:



# Среды:



ВАЖНО!

## по составу:

1. натуральные (см. выше – имеют неопределенный химический состав),
2. полусинтетические и
3. синтетические (содержат только химически чистые соединения в установленных дозировках).

**По плотности:** жидкие, полужидкие (0,2-0,7% агара) и плотные (1,5-2% агара).

Агар-агар – полисахарид, получаемый из морских водорослей. Образует в воде гель, плавящийся при 80-86° С. И застудневающий при 40-45° С. Он не расщепляется большинством МО.

По **свойствам и назначению:** простые (основные, универсальные)\*, сложные и специальные (на основе простых, предназначены для избирательного культивирования определенных видов МО, изучения их свойств).

- \* - мясopептонный бульон, мясopептонный агар, бульон Хоттингера и др.
- После приготовления среды стерилизуют. Некоторые среды (Эндо, Плоскирева, Левина) не требуют стерилизации.



# Агар-агар

Пищевая  
добавка  
E406



Питательные среды предназначены для накопления, выделения и изучения, а также сохранения микроорганизмов.

Для обеспечения различных типов метаболизма питательные среды:

1. Должны содержать все элементы, из которых строится клетка, в легкоусвояемой форме для конкретного микроорганизма.
2. Питательная среда должна иметь достаточную влажность (не менее 20%)
3. Концентрация солей в среде – изотоническая (от 0,5% - для большинства микроорганизмов и максимально для галофильных – 3%).
4. Концентрация водородных ионов (pH среды) – оптимальна для выращиваемого микроорганизма (в диапазоне от 4,5 до 8,5)
5. Окислительно-восстановительный потенциал среды (Eh) – для анаэробов – 0,120-0,060 В, для аэробов – более 0,080 В.
6. Питательная среда должна быть стерильной.

## Виды специальных сред

- Элективные (избирательные) – содержат компоненты положительной (оптимальные условия для нужного МО) или отрицательной (угнетает другие виды МО) селекции.
- Дифференциально-диагностические (содержат субстрат, к которому определяется отношение МО, и индикатор)
- Консервирующие

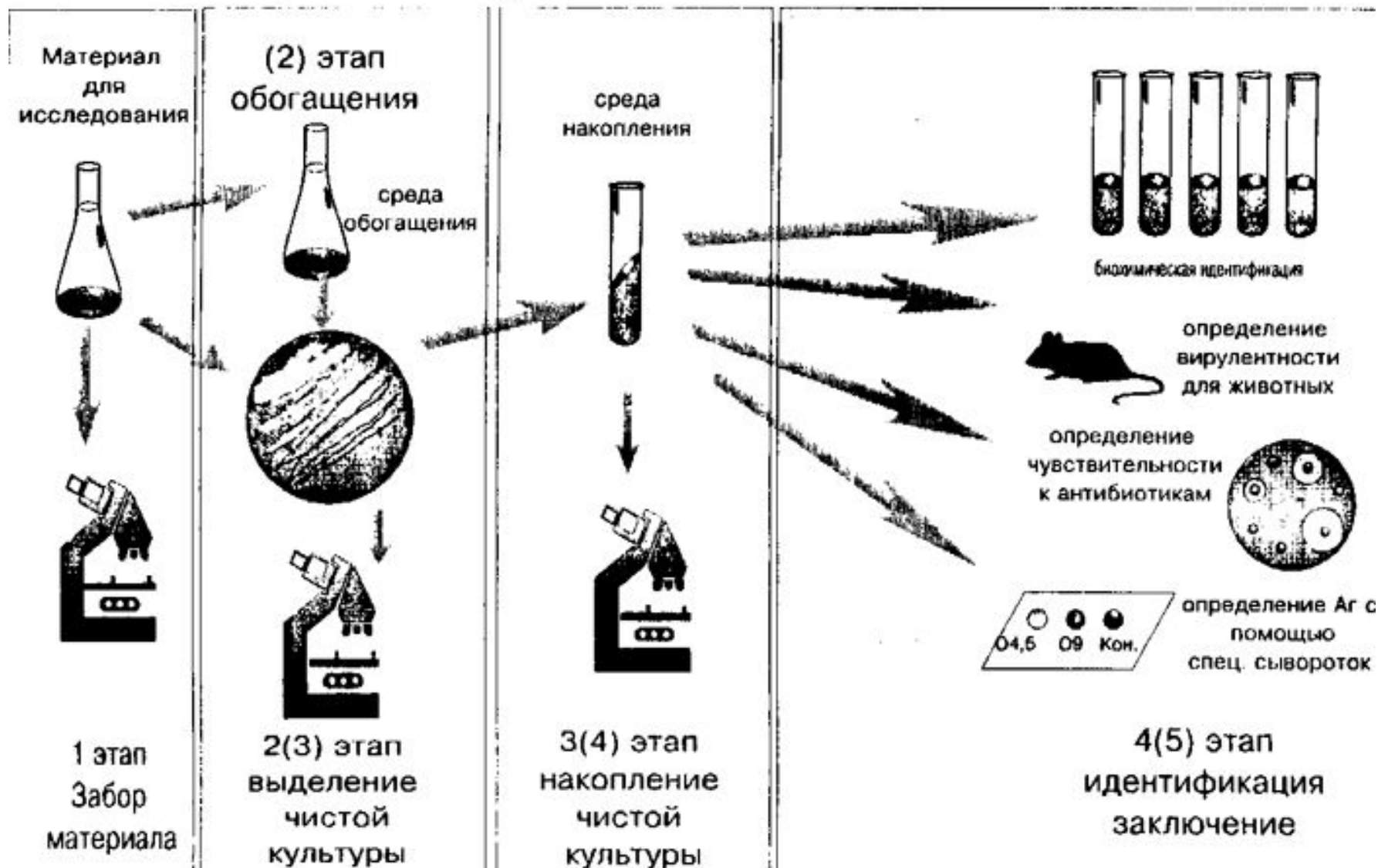
# Культивирование микроорганизмов в лабораторных УСЛОВИЯХ

## 1 этап выделения чистых культур:

1. Микроскопия (ориентировочная)
2. Подготовка материала к исследованию
3. Посев на среды обогащения
4. Посев на плотные питательные среды  
(получение колоний)

Колония – это популяция микробных клеток одного вида, сформировавшаяся в результате деления одной микробной клетки в условиях культивирования на плотной питательной среде.

# ОБЩАЯ СХЕМА ВЫДЕЛЕНИЯ ЧИСТЫХ КУЛЬТУР МИКРООРГАНИЗМОВ



# Выделение и идентификация чистых культур

## 2 этап (изолированные колонии)

1. Макроскопическое изучение колоний в проходящем свете (величина, форма, цвет, прозрачность, положение, поверхность, консистенция, структура, края)
2. Микроскопия колоний под малым увеличением микроскопа и в окрашенном мазке
3. Проба на аэротолерантность
4. Посев на скошенный питательный агар – выделение чистой культуры

# Выделение и идентификация чистых культур

3 этап (чистая культура) Идентификация  
выделенной культуры по комплексу  
биологических свойств:

1. Морфология и тинкториальные свойства,
2. Культуральные свойства
3. Биохимические свойства
4. Серологические свойства
5. Патогенность для животных
6. Фаголизабельность
7. Чувствительность к антибиотикам

Следствием этого этапа является заключение о выделенной культуре.

- Иногда при необходимости разделения микроорганизмов к среде культивирования добавляют компоненты, избирательно подавляющие рост тех или иных микроорганизмов. Например, введение нистатина для очищения от сопутствующих грибов. Введение селенита натрия стимулирует рост сальмонелл, ингибируя рост кишечной палочки.
- Некоторые подвижные бактерии могут быстро распространяться по поверхности влажной питательной среды, благодаря чему их можно очистить от неподвижных видов бактерий (*P. vulgaris*, *C. tetani*).
- Прогревание: при выделении чистой культуры спорообразующего вида бактерий исследуемый материал прогревают при 80 °С 20 мин или кратковременно кипятят. Вегетативные клетки сопутствующей микрофлоры в этих условиях погибают, а споры искомого микроорганизма сохраняют жизнеспособность и прорастают после посева на питательные среды.
- Способность микроорганизма расти при низких (листерии) или высоких (термофильные бактерии) температурах, которые лежат за пределами температурных диапазонов сопутствующих видов бактерий.

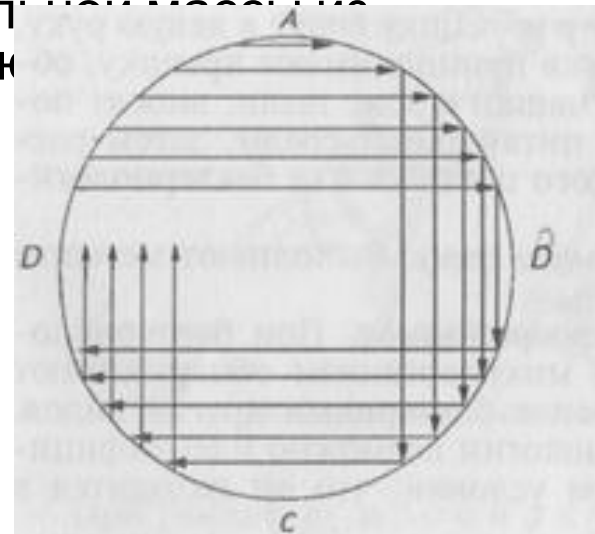


**Выделение чистых культур микроорганизмов.** При бактериологическом исследовании искомый микроорганизм обнаруживают в материале, как правило, в смеси с бактериями других видов. Классическими методами бактериологии возможно идентифицировать микроорганизм только при условии, что он находится в виде чистой культуры.

**Методы, основанные на механическом разобщении клеток.** Эти методы наиболее часто применяют при выделении чистых культур микроорганизмов.

- **Метод Пастера** (метод разведений): из исследуемого материала готовят ряд последовательных, чаще десятикратных разведений на стерильной жидкой питательной среде в пробирках или колбах ( $10^{-1} \dots 10^{-10}$ ). Предполагают, что количество микробных клеток в каждом последующем разведении будет меньше, чем в предыдущем, и в какой-то из пробирок останется только одна микробная клетка, которая и даст начало чистой культуре микроорганизма. Однако для успешного применения этого метода необходимо, чтобы искомый микроорганизм в материале количественно преобладал над сопутствующими видами.
- **Метод Коха** (метод заливок): исследуемый материал в небольшом количестве вносят в пробирку с расплавленным и охлажденным до 45-50 °С МПА, перемешивают, затем каплю питательной среды переносят во вторую пробирку с расплавленным МПА и т. д. Количество разведений зависит от предполагаемой численности микроорганизмов в исследуемом материале. Затем содержимое каждой пробирки выливают в стерильные чашки Петри, после затвердения среды посева помещают в термостат. Фиксированные в плотной среде микробные клетки при размножении формируют колонии, из которых можно отвить чистую культуру микроорганизма.

- **Метод Дригальского:** берут три-пять чашек Петри с плотной питательной средой. В одну из чашек вносят посевной материал и распределяют его шпателем по поверхности питательной среды. Не обжигая шпатель, оставшийся на нем материал последовательно растирают на поверхности среды во второй, третьей и остальных чашках. В последних чашках Петри после инкубирования в термостате обычно наблюдают формирование изолированных колоний бактерий.
- **Метод истощающего штриха:** Бактериологической петлей с посевным материалом несколько раз делают параллельные штрихи в одном секторе чашки Петри с питательным агаром. Петлю прожигают в пламени горелки, дают остыть и часть материала из первого сектора (А) аналогичным образом распределяют во втором секторе (В), затем в третьем (С) и четвертом (Д) секторах. При рассеве бактериальной массы на колонии в секторе Д при таком способе получают изолированных колоний.

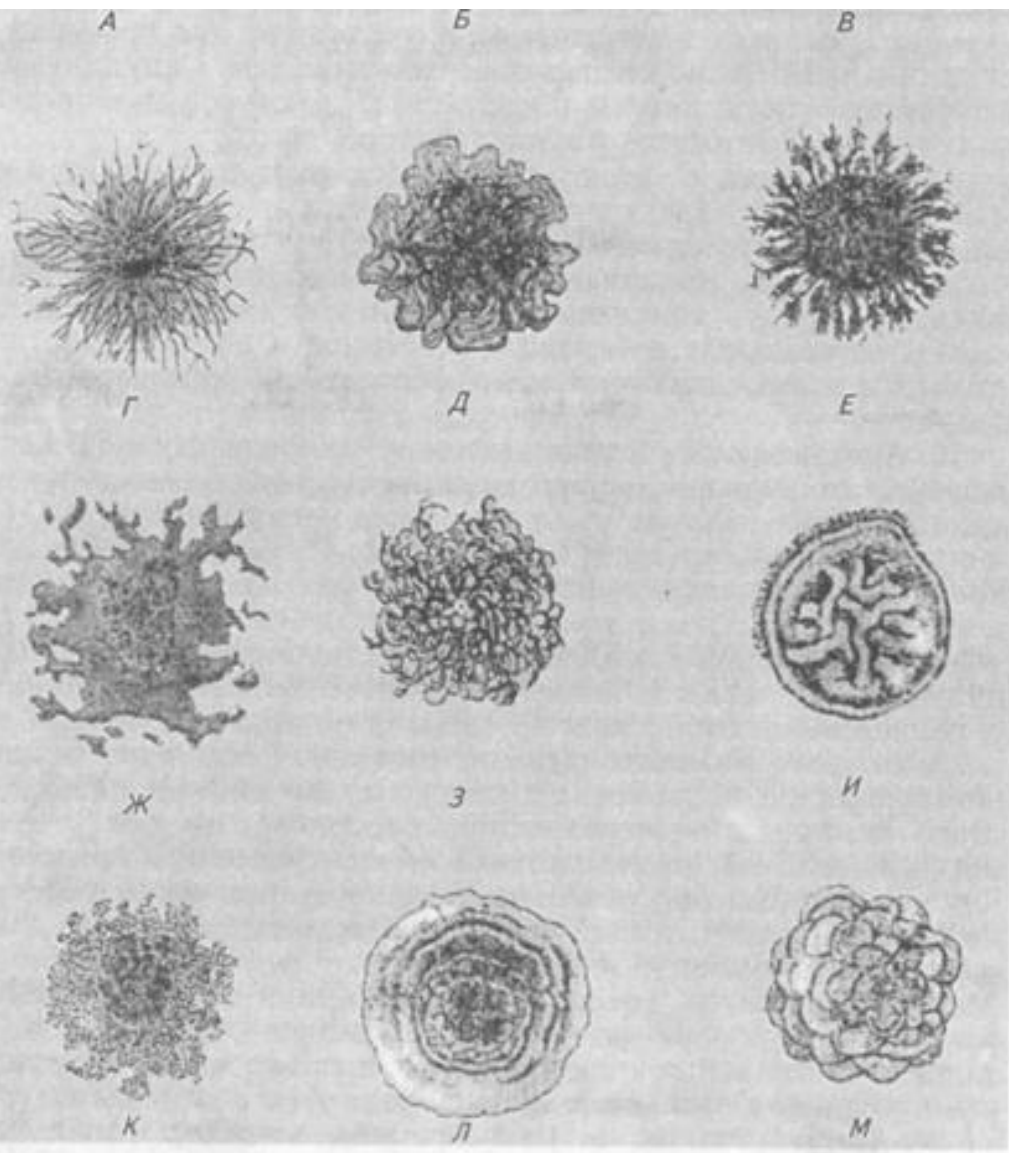


# Изучение изолированных колоний и отбивка (пересев) чистых культур МО

*Колония — макроскопически видимое скопление клеток микроорганизма на поверхности или внутри плотной питательной среды, образовавшихся в результате размножения одной жизнеспособной клетки. По этой причине колонию обычно рассматривают как чистую культуру микроорганизма.*

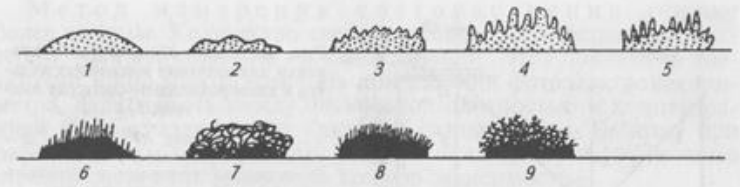
- Строение колоний – важный культуральный признак при определении вида микроорганизма.
- Отмечают величину колоний, форму, прозрачность - в проходящем свете, т.е. со дна чашки Петри.
- Определяют цвет, характер поверхности, расположение колоний на пит.среде (выпуклое, плоское, вдавленное) – в отраженном свете, т.е. со стороны крышки чашки Петри.
- Под микроскопом на малом увеличении (исследуют чашки дном вверх) – характер краёв колонии, структуру.

Анализируя морфологическую форму колоний важно определить тип колонии: s-тип колонии гладкие или r-тип колонии шероховатые или m-тип колонии слизистые.



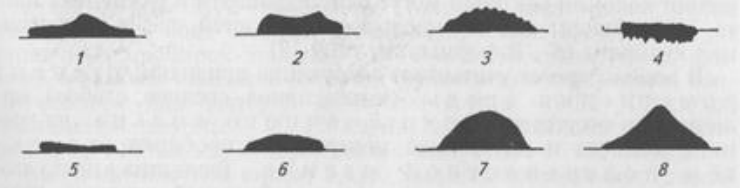
**Рис. 42. Форма колоний:**

круглая; B — круглая с фестончатым краем; B — круглая с валиком по краю; Г, Д — ризоид-  
 ; E — с ризоидным краем; Ж — амёбовидная; З — нитевидная; И — складчатая; К — непра-  
 вильная; Л — концентрическая; М — сложная



**Рис. 43. Край колонии:**

1 — гладкий; 2 — волнистый; 3 — зубчатый; 4 — лопастной; 5 — неправильный; 6 — реснитча-  
 тый; 7 — нитеватый; 8 — ворсинчатый; 9 — ветвистый



**Рис. 44. Профиль колонии:**

1 — изогнутый; 2 — кратерообразный; 3 — бугристый; 4 — растающий в субстрат; 5 —  
 плоский; 6 — выпуклый; 7 — чашевидный; 8 — конусовидный

# Биохимическая идентификация бактерий

- Способность бактерий расщеплять белки (протеолитические ферменты МО) – на средах с желатином (разжижение среды), молоком (просветление), сывороткой и пептоном (образование индола, сероводорода, аммиака и др).
- Способность бактерий разлагать сахара и многоатомные спирты с образованием кислоты – на средах Гиса, содержащих углеводов(какой-либо конкретный моносахарид или полисахароид) и индикатор. Это так называемый «пёстрый ряд». Оценивается газообразование (пузырьки в полужидкой среде или в поплавке в жидких средах).
- Эндо, Левина и Плоскирева (содержат лактозу) – изучение сахаролитических свойств МО. Цвет колоний изменяется соответственно индикатору (под действием образования кислоты при разложении молочного сахара).

# Ферменты бактерий

Ферменты – биологические катализаторы, ускоряющие течение метаболических реакций.

1. Эндоферменты - работают внутри бактериальной клетки, составляют мультиферментные комплексы, обеспечивающие процессы жизнедеятельности бактериальной клетки. Конститутивные ферменты (ферменты гликолиза) постоянно синтезируются в бактериальной клетке. Индуцибельные ферменты находятся в клетке в следовых концентрациях, а при наличии субстрата синтезируются в необходимом количестве (ферменты транспорта и катаболизма лактозы).
2. Экзоферменты - расщепляют крупные молекулы пептидов, полисахаридов и липидов до мономеров, способных проникнуть внутрь клетки. Экзоферменты часто являются маркёром таксономической принадлежности микроорганизма. Их выявляют с помощью дифференциально-диагностических сред.

# Отличия по набору

## ферментов:

**Микроорганизмы синтезируют разнообразные ферменты, принадлежащие к шести различным классам, что определяется геномом микроба и является стабильным признаком, применяемым при их идентификации.**

- Плазмокоагулаза (пробирочный тест с по скорости свертывания испытуемым МО цитратной плазмы крови)
- Гемотоксин (посев на кровяной агар, зоны просветления или лизиса вокруг колоний свидетельствуют о его наличия у данного МО)
- Лецитиназа (действует на лецитовителлин яичного желтка, выявляется при посеве на среду ЖСА (желточно-солевой агар) – вокруг колоний образуется зона помутнения с радужным венчиком.
- Гиалуронидаза (расщепляет гиалуроновую кислоту – добавление ГК к пробирке с тестируемым МО и после 30минутной экспозиции добавляется уксусная кислота – сгусток НЕ образуется, а в контрольном образце без МО и с Мо, заведомо не имеющими гиалуронидазы – формируется сгусток)
- Фибринолизин – растворяет фибрин плазмы крови, добавленной к питательной среде.
- Коллагеназа

# Определение ферментного спектра микроорганизмов как этап идентификации.

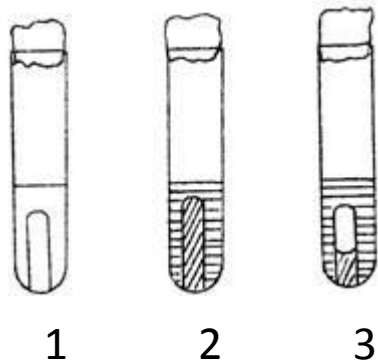
- В пределах семейства у представителей разных родов можно обнаружить как общие для семейства, так и специфические для родов наборы ферментов. У микроорганизмов разных видов в пределах одного рода есть общие (родовые) и специфические для отдельных видов ферменты. Таким образом, каждый вид микроорганизмов характеризуется специфическим набором ферментов.
- О наличии того или иного фермента судят по способности микроорганизмов воздействовать на известный субстрат. Присутствие фермента регистрируют по изменению физического состояния субстрата (разжижение желатины), закислению питательной среды (среды Гисса с углеводами), образованию определенных продуктов метаболизма (индол, сероводород, аммиак) и т.д.



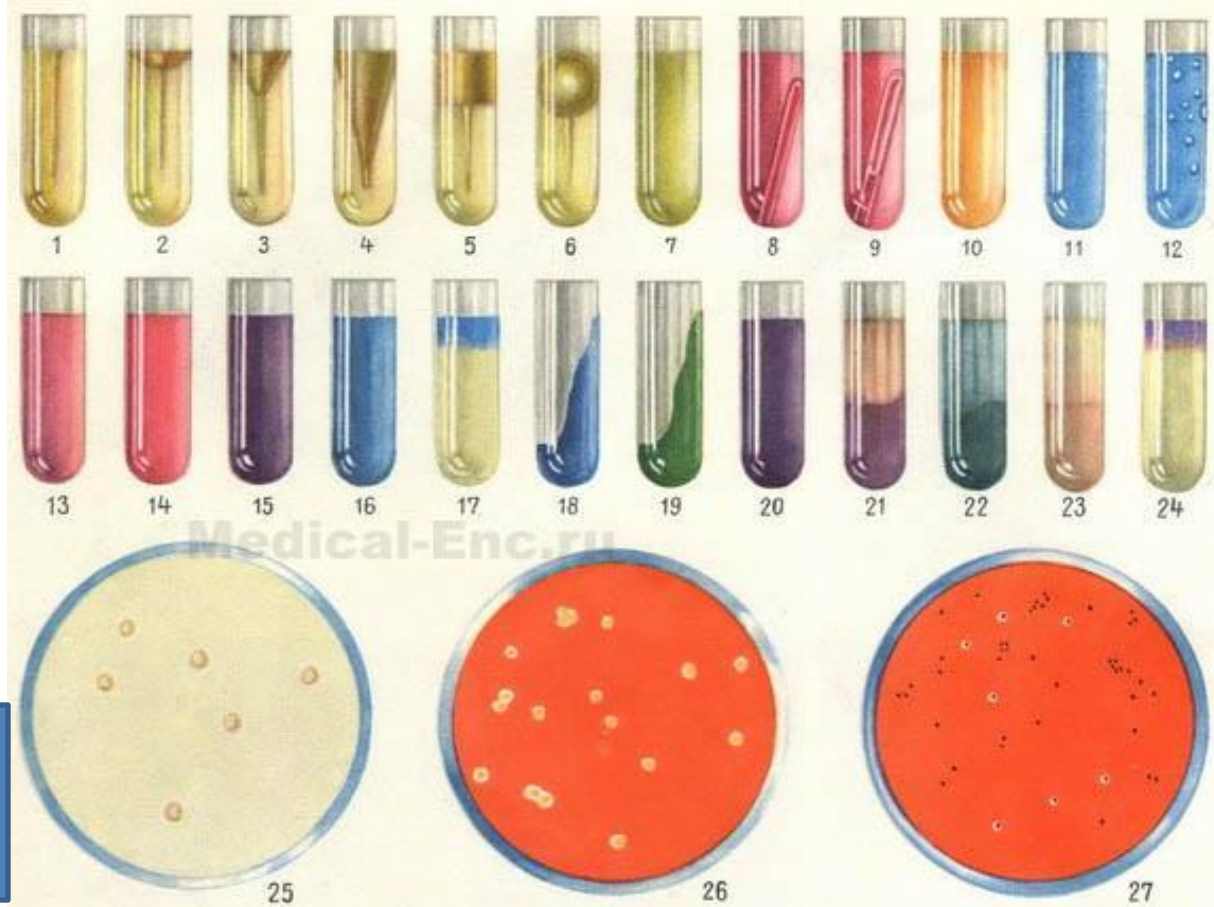
# Выявление сахаролитической активности микроорганизмов.

- В состав дифференциально-диагностических углеводных сред (среды Гисса — см. выше) входят различные соединения, которые можно назвать сахарами: моносахариды, полисахариды, многоатомные спирты. При утилизации углеводов в качестве конечных продуктов образуются кислоты и газообразные продукты. Соответственно расщепление углевода регистрируют по изменению **pH среды и выделению газообразных продуктов**. Закисление питательной среды улавливают при помощи различных индикаторов.
- Индикатор ВР (смесь водного голубого и аурин (розоловой кислоты)), входящий в состав сухих сред Гисса, меняет цвет от розового в щелочной среде через серый при нейтральном pH до голубого или ярко-синего в кислой среде.

- Индикатор Андрэдэ (кислый фуксин — 0,5 г, 1%-й раствор гидроксида натрия — 16 мл, дистиллированная вода — 84 мл) при закислении дает покраснение среды. Образование к-ты регистрируют по изменению цвета среды (соответственно в розовый и желтый), образование газа - по накоплению его в поплавках. Начальный и при отсутствии ферментации цвет среды - соломенно-желтый.
- В жидких средах Гисса образование газов при утилизации субстрата улавливают при помощи поплавков («газовок») — стеклянных трубочек, запаянных в верхнем конце и помещенных в пробирки. В «газовках» скапливаются газы, вытесняющие жидкую питательную среду; в полужидких средах Гисса газообразные продукты остаются в толще среды в виде пузырьков.



Среда Гисса в пробирках с «поплавками» для изучения сахаролитических свойств бактерий: до посева (1), ферментация углевода с образованием кислоты 2 (изменение цвета индикатора), образованием кислоты и газа 3 (изменение цвета индикатора и накопление газа в «поплавке»)



## Дифференциально- диагностические среды

Рис. 1—6. Различные формы расщепления желатины. Рис. 7 — 9. Жидкая среда с углеводом и индикатором Андраде: рис. 7 — отсутствие ферментации; рис. 8 — ферментация с образованием кислоты; рис. 9 — ферментация с образованием кислоты и газа. Рис. 10 — 12. Полужидкая среда с углеводом и индикатором ВР (из сухой питательной среды): рис. 10 — отсутствие ферментации; рис. 11 — ферментация с образованием кислоты; рис. 12 — ферментация с образованием кислоты и газа. Рис. 13—15. Искусственная лакмусовая сыворотка по Зейтцу: рис. 13 — отсутствие ферментации; рис. 14 — ферментация с образованием кислоты; рис. 15 — ферментация с образованием щелочи. Рис. 16 и 17. Молоко с метиленовым синим: рис. 16 — отсутствие редукции; рис. 17 — редукция. Рис. 18 и 19. Среда Симонса: рис. 18 — отсутствие ассимиляции цитрата; рис. 19 — ассимиляция цитрата. Рис. 20 — 24. Лакмусовое молоко: рис. 20 — отсутствие ферментации; рис. 21 — ферментация с образованием кислоты; рис. 22 — ферментация с образованием щелочи; рис. 23 — пептонизация; рис. 24 — редукция. Рис. 25. Разжижение свернутой сыворотки(в проходящем свете). Рис. 26. Гемолиз на кровяном агаре (в проходящем свете). Рис. 27. Кровяная среда с теллуридом калия.



# Тест-системы для быстрой идентификации бактерий

- Тест-системы для быстрой идентификации бактерий по группе специально отобранных биохимических признаков обычно представляют собой пластмассовые пластины с лунками (микропробирками), заполненными различными сухими средами (субстратами). В эти среды вносят суспензию исследуемой культуры и после инкубирования учитывают результат. К тест-системам прилагают таблицы для учета результатов и идентификации микроорганизмов в зависимости от спектра выявленных ферментов.
- За рубежом разработаны тест-системы для идентификации энтеробактерий, анаэробов и т. д. В России Нижегородский институт микробиологии и эпидемиологии выпускает тест-систему подобного типа — планшеты для идентификации энтеробактерий (ПБДЭ), кроме того, разработаны тест-системы для санитарно-микробио







# Глоссарий:

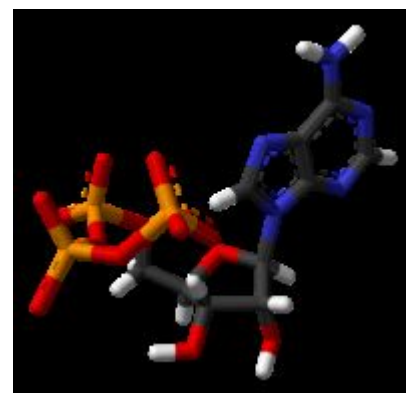
1. Внести в глоссарий варианты отношения микроорганизмов к кислороду (5 видов).
2. Внести в глоссарий классификацию питательных сред: а) по консистенции, б) по составу, в) по назначению.
3. Указать 3 этапа культивирования микроорганизмов в лабораторных условиях (указать для каждого, из чего состоят).
4. Выделение чистых культур методами, основанными на механическом разобщении клеток (указать основные).

# РЕБУС

1.

2.

3.



- 1. Загуститель, высокомолекулярный полисахарид, который содержится в некоторых морских водорослях.**
- 2. Направленное движение бактерий**
- 3. Возможный, необязательный. Термин применяется для описания организмов, не ограничивающихся каким-либо одним способом существования.**

*Воспользуемся для разгадывания ребуса первыми буквами загаданных слов.*



# Спасибо за внимание!

