



Введение в микробиологию

Olga.Punchenko@mail.ru

2016 г.

ДОО, Пунченко О.Е, асс. Рауш Е.Р.

- Микробиология (греч. μικρος-малый, лат. bios-жизнь) — наука, предметом изучения которой являются микроскопические существа, называемые микроорганизмами или микробами. Важны их биологические признаки, систематика, экология, взаимоотношения с другими организмами, населяющими нашу планету (животные, растения и человек). В область интересов микробиологии входит их систематика, морфология, физиология, биохимия, эволюция, роль в экосистемах, а также возможности практического использования.
- Микроорганизмы – **невидимые** простым глазом представители следующих царств: Бактерии, Грибы, Вирусы (Vira) + вириды, прионы, Простейшие (Protozoa).
- Микроорганизмы есть ВЕЗДЕ!

В зависимости от экологических особенностей микроорганизмов, условий их обитания, сложившихся отношений с окружающей средой, и в зависимости от практических потребностей человека, наука о микробах делится на специальные дисциплины:

- общая микробиология изучает наиболее общие закономерности, свойственные каждой группе перечисленных микроорганизмов: структуру, метаболизм, генетику, экологию и т. д.,
- медицинская изучает болезнетворные (патогенные) и условно-патогенные для человека микроорганизмы, а также разрабатывает методы микробиологической диагностики, специфической профилактики и этиотропного лечения вызываемых ими инфекционных заболеваний.,
- промышленная (или техническая) занимается разработкой биотехнологии синтеза микроорганизмами биологически активных веществ: белков, нуклеиновых кислот, антибиотиков, спиртов, ферментов, а также редких неорганических соединений.
- космическая,
- геологическая,
- сельскохозяйственная исследует роль микроорганизмов в круговороте веществ, использует их для синтеза удобрений, борьбы с вредителями.
- ветеринарная микробиология изучает возбудителей заболеваний животных, методы диагностики, специфической профилактики и этиотропного лечения, направленного на уничтожение возбудителя инфекции в организме больного животного.
- Санитарная микробиология изучает санитарно-микробиологическое состояние объектов окружающей среды, пищевых продуктов и напитков, и разрабатывает санитарно-микробиологические нормативы и методы индикации патогенных микроорганизмов в различных объектах и продуктах.



Цель медицинской микробиологии — изучение структуры и свойств патогенных микроорганизмов, взаимоотношения их с организмом человека в определенных условиях природной и социальной среды, совершенствование методов микробиологической диагностики, разработка новых, более эффективных лечебных и профилактических препаратов, решение такой важной проблемы, как ликвидация и предупреждение инфекционных болезней.

Методы исследования любых микроорганизмов относят:

направлены на изучение свойств микробов, обуславливающих их патогенное действие, и процессы, которые возникают под их влиянием в организме человека и животных.

- микроскопический - изучение морфологии микробов с использованием специальной микроскопической техники (микроскопия: световая (в том числе фазово-контрастная, темнопольная, флуоресцентная) и электронная);
- культуральный - получение чистых культур микробов и изучение их биологических свойств, позволяющие провести идентификацию, т.е. определение, вида микроба; культуральный метод (бактериологический, микологический, вирусологический);
- биологический метод (заражение лабораторных животных или куриных эмбрионах с воспроизведением инфекционного процесса на чувствительных моделях);
- молекулярно-биологический метод (ПЦР, ДНК- и РНК-зонды, и др.); изучение состава микробных нуклеиновых кислот с помощью полимеразной цепной реакции, секвенирования и гибридизации ДНК, МАЛДИ-ТОФ масс-спектрометрия – определение белкового масс-спектра бактерий и грибов
- серологический метод — выявления антигенов микроорганизмов или антител к ним в биологических жидкостях организма больного (чаще в сыворотке крови; от лат. serum - сыворотка) (серологические реакции).
- аллергологический - оценка аллергических феноменов, возникающих в организме человека (на коже, слизистых оболочках или в крови) под действием компонентов или цельных клеток микроба-возбудителя.
- хемотаксономический - изучение микробов по продуктам их жизнедеятельности непосредственно в организме (без предварительного культивирования на питательных средах). Для этого применяют газовую и газожидкостную хроматографию;

История науки

За несколько тысяч лет до возникновения микробиологии как науки человек, не зная о существовании микроорганизмов, широко применял природные процессы, связанные с брожением, для приготовления кумыса и других кисломолочных продуктов, получения алкоголя, уксуса, при мочке льна.

□ Донаучный этап развития

Люди издревле знали о многих процессах, вызываемых микроорганизмами, однако не знали истинных причин, вызывающих эти явления. Отсутствие сведений о природе таких явлений не мешало делать наблюдения и даже использовать ряд этих процессов в быту. Еще Гиппократ (460-377гг. до н.э.) предполагал, что заразные болезни вызываются невидимыми живыми существами. При этом наиболее близко к открытию микромира подошел Джироламо Фракасторо (1478—1553), предположивший, что инфекции вызывают маленькие тельца, передающиеся при контакте и сохраняющиеся на вещах больного. Однако в то время невозможно было удостовериться в правильности его идей, и распространение получили совершенно иные гипотезы.

Многие учёные продолжали отвергать бактериальную природу инфекционных заболеваний даже после революционных открытий Пастера и Коха. Так, в 1892 году Макс Петтенкофер, уверенный в том что холеру вызывают миазмы, выделяемые окружающей средой, пытаясь доказать свою правоту, проглотил при свидетелях-медиках культуру холерных вибрионов и не заболел.

□ Описательный этап

- Возможность изучения микроорганизмов возникла лишь с развитием оптических приборов. Первый микроскоп был создан ещё в 1610 году Галилеем. В 1665 Роберт Гук впервые увидел растительные клетки. Однако 30-кратного увеличения его микроскопа не хватило, чтобы увидеть простейших и тем более бактерии. По мнению В. Л. Омелянского «первым исследователем, перед изумлённым взором которого открылся мир микроорганизмов, был учёный иезуит Афанасий Кирхер (1601—1680), автор ряда сочинений астрологического характера», однако обычно первооткрывателем микромира называют Антони ван Левенгука.
- В своём письме Лондонскому Королевскому обществу он сообщает, как 24 апреля 1676 года микроскопировал каплю воды, и даёт описание увиденных там существ, в том числе бактерий. Левенгук считал обнаруженных им микроскопических существ «очень маленькими животными» и приписывал им те же особенности строения и поведения, что и обычным животным. Повсеместное распространение этих «животных» стало сенсацией не только в научном мире. Левенгук демонстрировал свои опыты всем желающим, в 1698 году его даже посетил Пётр I.
- Между тем, наука в целом ещё не была готова к пониманию роли микроорганизмов в природе. Система теорий возникла тогда лишь в физике. Во времена Левенгука отсутствовали представления о ключевых процессах живой природы, так, незадолго до него в 1648 году Ван Гельмонт, не имея никакого понятия о фотосинтезе, заключил из своего опыта с ивой, что растение берёт питание только из дистиллированной воды, которой он его поливал. Более того, даже неживая материя ещё не была достаточно изучена, состав атмосферы, необходимый для понимания того же фотосинтеза, будет определён лишь в 1766—1776 годах. Поэтому неудивительно, что «животным» Левенгука не нашлось место нигде, кроме как в коллекции курьёзов.

- В течение следующих 100—150 лет развитие микробиологии проходило лишь с описанием новых видов. Видную роль в изучении многообразия микроорганизмов сыграл датский биолог Отто Фридрих Мюллер, который к 1789 описал и назвал по линнеевской биномиальной номенклатуре 379 различных видов. В это время было сделано и несколько интересных открытий. Так, в 1823 была определена причина «кровоточения» просфор — бактерия, названная *Serratia marcescens* (другое название — *Monas prodigiosa*). Также следует отметить Христиана Готфрида Эренберга, описавшего множество пигментированных бактерий, первые железобактерии, а также скелеты простейших и диатомовых водорослей в морских и лиманных отложениях, чем положил начало микропалеонтологии. Именно он впервые объяснил окраску воды Красного моря развитием в ней цианобактерий *Trichodesmium erythraeum*. Он, однако, причислял бактерий к простейшим и рассматривал их вслед за Левенгуком как полноценных животных с желудком, кишечником и конечностями...
- В России одним из первых микробиологов был Л. С. Ценковский (1822—1887), описавший большое число простейших, водорослей и грибов и сделавший вывод об отсутствии резкой границы между растениями и животными. Им также была организована одна из первых Пастеровских станций и предложена вакцина против сибирской язвы.
- Высказывались в это время и смелые гипотезы, например врач-эпидемиолог Д. С. Самойлович (1744—1801) был убеждён, что болезни вызываются именно микроорганизмами, однако тщетно пытался увидеть в микроскоп возбудитель чумы — возможности оптики тогда ещё не позволяли это сделать. В 1827 году итальянец А. Басси обнаружил передачу болезни шелковичного червя при переносе микроскопического гриба. Ж. Л. Л. Бюффон и А. Л. Лавуазье связывали брожение с дрожжами, однако общепринятой оставалась чисто химическая теория этого процесса, сформулированная в 1697 году Г. Э. Шталем. Для спиртового брожения, как для любой реакции, Лавуазье и Л. Ж. Гей-Люссаком были посчитаны стехиометрические соотношения. В 1830-х Ш. Каньяр де Латур, Ф. Кютцинг и Т. Шванн независимо друг от друга наблюдали обилие микроорганизмов в осадке и плёнке на поверхности бродящей жидкости и связали брожение с их развитием. Эти представления наткнулись, однако, на резкую критику со стороны таких видных химиков как Фридрих Вёлер, Иёнс Якоб Берцелиус и Юстус Либих. Последний даже написал анонимную статью «О разгаданной тайне спиртового брожения» (1839) — саркастическую пародию на микробиологические исследования тех лет.
- Тем не менее, вопрос о причинах брожения, тесно связанный с вопросом о спонтанном самозарождении жизни, стал первым успешно решённым вопросом о роли микроорганизмов в природе.

□ Споры о самозарождении и брожении

Средние века были временем господства идей Аристотеля, что означало также и признание его теорий зарождения рыб из ила, насекомых из экскрементов или капель росы на листьях. Первые эксперименты, опровергающие представления Аристотеля, поставил тосканский придворный медик Франческо Реди (1626—1697). Общий его принцип — наблюдение за питательным веществом в открытом (куда возможно попадание живых организмов) и в каком-либо образом закрытом от них, но не от воздуха, сосуде — использовался во всех подобных опытах. Тогда было опровергнуто самозарождение насекомых, но уже в XVIII веке католический священник Джон Турбервилл Нидхем выдвинул гипотезу «жизненной силы», существующей в живых телах и вызывающей при их распаде возникновение микроорганизмов. Против него выступил Ладзаро Спалланцани, показав что нагревание препятствует появлению живых существ в настое растительных и животных волокон, закрытом в сосуде. Тогда Нидхем возразил, что воздух, в котором имеют потребность живые существа, теряет свою «жизненную силу» при нагревании.

- Франц Шульц после стерилизации сосуда с настоем пускал туда воздух, пропущенный через карболовую кислоту, и не наблюдал развития там микроорганизмов. Чтобы избежать возражений, что кислота тоже лишает воздух жизненной силы, Шрёдер и фон Душ в 1854 году пропускали воздух через хлопковый фильтр, а в 1860 Гофман и независимо от него в 1861 Шевре и Пастер показали, что нет необходимости и в фильтре — достаточно изогнуть трубки, соединяющие атмосферу и сосуд, чтобы в нём после стерилизации не «зарождася» жизнь. Так принцип *omne vivum ex vivo* (всё живое из живого) окончательно победил в биологии. Используя представления о невозможности самозарождения жизни, Луи Пастер в 1860-х показал, что стерилизация делает брожение невозможным, таким образом было доказано участие в нём микроорганизмов. Кроме того, это стало открытием новой формы жизни — анаэробной, не требующей кислорода, а иногда даже гибнущей под его воздействием.
- Постепенно складывалось и осознание особого положения микромира в живой природе. В начале XIX века микроорганизмы причислялись к червям. В 1866 Эрнст Геккель впервые выделил их в отдельное царство *Protista*. Затем Ф. Кон в 1875, изучая синезелёные водоросли, отграничил их от растений и объединил их с бактериями как наиболее простых из существующих организмов. К концу XIX века стало ясно, что протисты, объединяемые по своим микроскопическим размерам, существенно различаются между собой. Они были разделены на «высшие» (простейшие, микроскопические грибы и водоросли, дрожжи) и «низшие» (бактерии и синезелёные водоросли). Лишь в 1930-х после новых открытий в строении клетки Э. Шаттон предложил термины «эукариоты» и «прокариоты». Отсекаются и приписываемые микроорганизмам «уникальные» свойства, одним из которых была способность самозарождаться. Другим был их плеоморфизм, то есть нераспространение на бактерий закона Линнея о постоянстве видов. Её появление было вызвано бедностью внешних форм бактерий при богатстве физиологических и биохимических свойств, отчего и казалось, что одна та же бактерия проявляет себя по-разному. Особую роль в опровержении этой теории также сыграл Кон.

□ Золотой век микробиологии

1880-е и 1890-е ознаменовались для микробиологии всплеском числа открытий. Во многом это было связано с подробной разработкой методологии.

Прежде всего здесь следует отметить вклад **Роберта Коха**, создавшем в конце 1870-х — начале 1880-х ряд новых методов и общих принципов ведения исследовательской работы.

Роберту Коху принадлежат также знаменитые постулаты:

- возбудитель заболевания должен регулярно обнаруживаться у пациента;
- он должен быть выделен в чистую культуру;
- выделенный организм должен вызывать у подопытных животных те же симптомы, что и у больного человека.
- Эти принципы были приняты не только в медицине, но и в экологии для определения вызывающих те или иные процессы организмов.
- Также Кох ввёл в применение методы окраски бактерий (ранее использованные в ботанике) и микрофотографию. Публикации Коха содержали в себе методики, принятые микробиологами всего мира.
- В 1881 Роберт Кох положил начало широкому применению желатиновых и агаровых пластинок. В 1887 году введены в практику чашки Петри.

Луи Пастер использовал для выращивания микроорганизмов жидкие среды, содержащие все элементы, находимые в живых организмах. Жидкие среды, однако, были недостаточно удобны. Так, сложно было выделить колонию, происходящую от одной живой клетки («чистая культура»), в связи с чем можно было изучать только обогащённые самой природой культуры. Лишь в 1883 Э. Христианом Гансеном была получена первая чистая культура дрожжей, полученная методом висючей капли. Твёрдые среды впервые использовались для изучения грибов, где необходимость чистых культур также была обоснована. Для бактерий твёрдые среды применял Кон во Вроцлаве зимой 1868/69 годов. Вслед за ним началось развитие и обогащение методологии, так в 1884 Ганс Христиан Грам использовал метод дифференцирующего окрашивания бактерий (Метод Грама), С. Н. Виноградский в 1891 применил первую селективную среду. За следующие годы было описано больше видов чем за всё предыдущее время, выделены возбудители опаснейших заболеваний, обнаружены новые процессы, производимые бактериями и неизвестные в других царствах природы.

Генрих Антон де Бари немецкий морфолог, миколог и анатом растений, один из основоположников микологии

- Работы Де Бари легли в основу современной микологии и фитопатологии
- Ученый первым выяснил гетеротрофный характер питания грибов;
- изучил жизненный цикл многих грибов, открыл и исследовал процесс оплодотворения у грибов.
- установил, что паразитные грибы являются возбудителями болезней у высших растений
- предложил систематику грибов, описал морфологию, эволюцию и биологию грибов, лишайников и миксомицетов.
- провел исследования в области альгологии (изучения водорослей).
- ввел в науку понятия симбиоз, мутуализм (на примере лишайников) и противопоставил их паразитизму.
- Его учениками были С. Н. Виноградский, Роберт Кох

□ Российский вклад в микробиологию

Мечников Илья Ильич русский и французский **биолог** (микробиолог, **цитолог**, эмбриолог, иммунолог, физиолог и патолог). Лауреат Нобелевской премии в области физиологии и медицины (**1908**).

- один из основоположников эволюционной эмбриологии,
- первооткрыватель фагоцитоза и внутриклеточного пищеварения,
- создатель сравнительной патологии воспаления,
- фагоцитарной теории иммунитета, теории фагоцителлы,
- основатель научной геронтологии
- Мечников создал первую русскую школу микробиологов, иммунологов и патологов
- Мечников стал пропагандировать широкой общественности полезность болгарского йогурта

Сорокин Николай Васильевич ученый-миколог, основоположник медицинской микологии в России. Стажировался у Антона де Бари.

- активно участвовал в экспедициях с целью изучения грибов.
- описал грибы — возбудители инфекционных заболеваний, такие как *Oidium* (ныне *Candida*), *Achorion Schoenleinii*, ряд видов из родов *Trichophyton*, *Microsporum*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Mucor* и пр.
- Работал в области клинической микологии, например, в отношении *Candida albicans*; в отношении грибов, повреждающих ногти и волосы в отношении *Mucor spp.*
- впервые начал университетское преподавание общей и медицинской микологии.
- в 1877 году написал и издал руководство под названием «Основы микологии с обзором учения о заразных болезнях» - первого русскоязычного учебника, объединившего данные микологии и фитопатологии. Составил пособие «Морфология спорных растений» с детальным описанием разнообразия строения грибов

Кашкин Павел Николаевич ученый-миколог

В 1931 г. совместно с акад. О. Н. Подвысоцкой опубликовал первое в России руководство по исследованию дерматомицетов.

- Во второй половине 30-х годов XX в. П.Н. Кашкин защитил три диссертации, став кандидатом, а затем доктором медицинских наук, а также кандидатом биологических наук, и был утвержден в ученом звании профессора (1934-1938 гг.).
- С 1935 г. он - заведующий кафедрой микробиологии на фармацевтическом факультете 1-го Ленинградского медицинского института (ныне - СПбХФА).
- П.Н. Кашкин уже в конце 50-х годов привлек внимание к проблеме глубоких микозов, стал преподавать соответствующие разделы медицинской микологии врачам-курсантам в ЛенГИДУВе.
- В 1958 г. П.Н. Кашкин организовал при кафедре микологическую лабораторию, последовательно трансформированную в научно-исследовательский отдел глубоких микозов, затем - во Всесоюзный Центр МЗ СССР по глубоким микозам и микогенной аллергии, и, наконец, в НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина СПбМАПО (1998 г.).

Техническая, или промышленная, микробиология

- Техническая микробиология изучает микроорганизмы, используемые в производственных процессах с целью получения различных практически важных веществ: пищевых продуктов, этанола, глицерина, ацетона, органических кислот и др.
- Огромный вклад в развитие микробиологии внесли русские и советские учёные: И. И. Мечников (1845—1916), Д. И. Ивановский (1863—1920), Н. Ф. Гамалея (1859—1949), Л. С. Ценковский (1822—1887), С. Н. Виноградский (1856—1953), В. Л. Омелянский (1867—1928), Д. К. Заболотный (1866—1929), В. С. Буткевич (1872—1972), С. П. Костычев (1877—1931), Н. Г. Холодный (1882—1953), В. Н. Шапошников (1884—1968), Н. А. Красильников (1896—1973), А. А. Имшенецкий (1905—1992) и др.
- Большая роль в развитии технической микробиологии принадлежит С. П. Костычеву, С. Л. Иванову и А. И. Лебедеву, которые изучили химизм процесса спиртового брожения, вызываемого дрожжами. На основании исследований химизма образования органических кислот мицелиальными грибами, проведённым В. Н. Костычевым и В. С. Буткевичем, в 1930 году в Ленинграде было организовано производство лимонной кислоты. На основе изучения закономерностей развития молочнокислых бактерий, осуществлённого В. Н. Шапошниковым и А. Я. Мантейфель, в начале 1920-х годов в СССР было организовано производство молочной кислоты, необходимой в медицине для лечения ослабленных и рахитичных детей. В. Н. Шапошников и его ученики разработали технологию получения ацетона и бутилового спирта с помощью бактерий, и в 1934 году в Грозном был пущен первый в СССР завод по выпуску этих растворителей. Труды Я. Я. Никитинского и Ф. М. Чистякова положили начало развитию микробиологии консервного производства и холодильного хранения скоропортящихся пищевых продуктов. Благодаря работам А. С. Королёва, А. Ф. Войткевича и их учеников значительное развитие получила микробиология молока и молочных продуктов.
- Частью технической микробиологии является **пищевая микробиология**, изучающая способы получения пищевых продуктов с использованием микроорганизмов. Например, дрожжи применяют в виноделии, пивоварении, хлебопечении, спиртовом производстве; молочнокислые бактерии — в производстве кисломолочных продуктов, сыров, при квашении овощей; уксуснокислые бактерии — в производстве уксуса; мицелиальные грибы используют для получения лимонной и других пищевых органических кислот и т. д. К настоящему времени выделились специальные разделы пищевой микробиологии: микробиология дрожжевого и хлебопекарного производства, пивоваренного производства, консервного производства, молока и молочных продуктов, уксуса, мясных и рыбных продуктов, маргарина и т. д.



□ Связь микробиологии с другими науками. М. в той или иной степени связана с др. науками: морфологией и систематикой низших растений и животных (микологией, альгологией, протистологией), физиологией растений, биохимией, биофизикой, генетикой, эволюционным учением, молекулярной биологией, органической химией, агрохимией, почвоведением, биогеохимией, гидробиологией, химической и микробиологической технологией и др. Микроорганизмы служат излюбленными объектами исследований при решении общих вопросов биохимии и генетики. Так, с помощью мутантов, утративших способность осуществлять один из этапов биосинтеза какого-либо вещества, были расшифрованы механизмы образования многих природных соединений (например, аминокислот лизина, аргинина и др.). Изучение механизма фиксации молекулярного азота для воспроизведения его в промышленных масштабах направлено на поиски катализаторов, аналогичных тем, которые в мягких условиях осуществляют азотфиксацию в клетках бактерий. Между М. и химией существует постоянная конкуренция при выборе наиболее экономичных путей синтеза различных органических веществ. Ряд веществ, которые ранее получали микробиологическим путём, теперь производят на основе чисто химического синтеза (этиловый и бутиловый спирты, ацетон, метионин, антибиотик левомецетин и др.). Некоторые синтезы осуществляют как химическим, так и микробиологическим путём (витамин В₂, лизин и др.). В ряде производств сочетают микробиологические и химические методы (пенициллин, стероидные гормоны, витамин С и др.). Наконец, есть продукты и препараты, которые пока могут быть получены только путём микробиологического синтеза (многие антибиотики сложного строения, ферменты, липиды, кормовой белок и т.д.).

Современная микробиология

- Существуют три основных причины бурного развития:
 - Во-первых, благодаря успехам физики, химии и техники М. получила большое число новых методов исследования.
 - Во-вторых, начиная с 40-х гг. 20 в. резко возросло практическое применение микроорганизмов.
 - В-третьих, микроорганизмы стали использовать для решения важнейших биологических проблем, таких, как наследственность и изменчивость, биосинтез органических соединений, регуляция обмена веществ и др. Успешное развитие современной М. невозможно без гармонического сочетания исследований, проводимых на популяционном, клеточном, органоидном и молекулярном уровнях. Для получения бесклеточных ферментных систем и фракций, содержащих определённые внутриклеточные структуры, применяют аппараты, разрушающие клетки микроорганизмов, а также градиентное центрифугирование, позволяющее получать частицы клеток, обладающие различной массой. Для исследования морфологии и цитологии микроорганизмов разработаны новые виды микроскопической техники. В СССР был изобретён метод капиллярной микроскопии, позволивший открыть новый, ранее не доступный для наблюдения мир микроорганизмов, обладающих своеобразной морфологией и физиологией.
- Для изучения обмена веществ и химического состава микроорганизмов получили распространение различные способы хроматографии, масс-спектрометрия, метод изотопных индикаторов, электрофорез и др. физические и физико-химические методы. Для обнаружения органических соединений применяют также чистые препараты ферментов. Предложены новые способы выделения и химической очистки продуктов жизнедеятельности микроорганизмов (адсорбция и хроматография на ионообменных смолах, а также иммунохимические методы, основанные на специфической адсорбции определённого продукта, например фермента, антителами животного, образовавшимися у него после введения этого вещества). Сочетание цитологических и биохимических методов исследования привело к возникновению функциональной морфологии микроорганизмов. С помощью электронного микроскопа стало возможным изучение тонких особенностей строения цитоплазматических мембран и рибосом, их состава и функций (например, роль цитоплазматических мембран в процессах транспорта различных веществ или участие рибосом в биосинтезе белка).
- Лаборатории обогатились Ферментёрами различной ёмкости и конструкции. Широкое распространение получило непрерывное культивирование микроорганизмов, основанное на постоянном притоке свежей питательной среды и оттоке жидкой культуры. Установлено, что наряду с размножением клеток (ростом культуры) происходит развитие культуры, т. е. возрастные изменения у клеток, составляющих культуру, сопровождающиеся изменением их физиологии (молодые клетки, даже интенсивно размножаясь, не способны синтезировать многие продукты жизнедеятельности, например ацетон, бутанол, антибиотики, образуемые более старыми культурами). Современные методы изучения физиологии и биохимии микроорганизмов дали возможность расшифровать особенности их энергетического обмена, пути биосинтеза аминокислот, многих белков, антибиотиков, некоторых липидов, гормонов и др. соединений, а также установить принципы регуляции обмена веществ у микроорганизмов.

Практическое значение микробиологии.

- Активно участвуя в круговороте веществ в природе, микроорганизмы играют важнейшую роль в плодородии почв, в продуктивности водоёмов, в образовании и разрушении залежей полезных ископаемых. Особенно важна способность микроорганизмов минерализовать органические остатки животных и растений. Всё возрастающее применение микроорганизмов в практике привело к возникновению микробиологической промышленности и к значительному расширению микробиологических исследований в различных отраслях промышленности и сельского хозяйства. С середины 19 в. до 40-х гг. 20 в. техническая М. в основном изучала различные брожения, а микроорганизмы использовались преимущественно в пищевой промышленности. С 40-х гг. быстро развиваются новые направления технической М., которые потребовали иного аппаратного оформления микробиологических процессов. Выращивание микроорганизмов стали проводить в закрытых ферментёрах большой ёмкости, совершенствовались методы отделения клеток микроорганизмов от культуральной жидкости, выделения из последней и химической очистки их продуктов обмена. Одним из первых возникло и развилось производство антибиотиков. В широких масштабах микробиологическим путём получают аминокислоты (лизин, глутаминовая кислота, триптофан и др.), ферменты, витамины, а также кормовые дрожжи на непищевом сырье (сульфитные щелока, гидролизаты древесины, торфа и с.-х. растительные отходы, углеводороды нефти и природного газа, фенольные или крахмалсодержащие сточные воды и т.д.). Осуществляется получение микробиологическим путём полисахаридов и осваивается промышленный биосинтез липидов. Резко возросло применение микроорганизмов в сельском хозяйстве. Увеличилось производство бактериальных удобрений, в частности нитрагина, приготовляемого из культур клубеньковых бактерий, фиксирующих азот в условиях симбиоза с бобовыми растениями, и применяемого для заражения семян бобовых культур. Новое направление с.-х. М. связано с микробиологическими методами борьбы с насекомыми и их личинками — вредителями с.-х. растений и лесов. Найдены бактерии и грибы, убивающие своими токсинами этих вредителей, освоено производство соответствующих препаратов. Высушенные клетки молочнокислых бактерий используют для лечения кишечных заболеваний человека и с.-х. животных.
- Деление микроорганизмов на полезных и вредных условно, т.к. оценка результатов их деятельности зависит от условий, в которых она проявляется. Так, разложение целлюлозы микроорганизмами важно и полезно в растительных остатках или при переваривании пищи в пищеварительном тракте (животные и человек не способны усваивать целлюлозу без её предварительного гидролиза микробным ферментом целлюлазой). В то же время микроорганизмы, разлагающие целлюлозу, разрушают рыболовные сети, канаты, картон, бумагу, книги, хлопчато-бумажные ткани и т.д. Для получения белка микроорганизмы выращивают на углеводородах нефти или природного газа. Одновременно с этим большие количества нефти и продуктов её переработки разлагаются микроорганизмами на нефтяных промыслах или при их хранении. Даже болезнетворные микроорганизмы не могут быть отнесены к абсолютно вредным, т.к. из них готовят вакцины, предохраняющие животных или человека от заболеваний. Порча микроорганизмами растительного и животного сырья, пищевых продуктов, строительных и промышленных материалов и изделий привела к разработке различных способов их предохранения (низкая температура, высушивание, стерилизация, консервирование, добавление антибиотиков и консервантов, подкисление и т.п.). В др. случаях возникает необходимость ускорить разложение определённых химических веществ, например пестицидов, в почве. Велика роль микроорганизмов при очистке сточных вод (минерализация веществ, содержащихся в сточных водах).

Оснащение и режим работы микробиологической лаборатории



Разновидности микробиологических лабораторий

- Бактериологическая (по степени опасности)
- Вирусологическая (по степени опасности)
- Микологическая
- Иммунологическая





Материал для обработки в лаборатории

- выделения из организма человека: моча, кал, мокрота, гной, а также кровь, спинномозговая жидкость и трупный материал;
- объекты внешней среды: вода, воздух, почва, продукты питания, лекарственные препараты, смывы с предметов инвентаря, рук и т. п.

ГРУППЫ ПАТОГЕННОСТИ

- В РФ существует понятие «группы патогенности», т.е. микроорганизмы разделены степени опасности вызываемого заболевания (I, II, III, IV)
- За рубежом – понятие «уровни биологического риска» (BSL), т.е. способность вызвать заболевание у людей или животных (BSL-1,2,3,4)



ГРУППЫ ПАТОГЕННОСТИ

(по классификации ВОЗ –обратный порядок)

I группа – возбудители особо опасных инфекций

(*Y. pestis*, Filoviridae: вирусы Марбург и Эбола и др.)

II группа - возбудители высококонтагиозных эпидемических заболеваний человека (*B.anthraxis*, *Brucella .spp.*, *F. tularensis*, *V.cholera O1 (O139)*, *Histoplasma capsulatum*, Retroviridae: вирусы иммунодефицита человека)

III группа – возбудители инфекционных болезней, выделяемых в самостоятельные нозологические группы (*B.pertussis*, *C.botulinum*, *C.diphtheriae*, *N. meningitidis*, *N.gonorrhoeae*, *S.typhi*, *C. albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Cryptococcus neoformans*, Orthomyxoviridae: вирусы гриппа А, В и С, Herpesviridae: вирусы простого герпеса I и II и др.)

IV группа – условно-патогенные микроорганизмы (*Campylobacter spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Candida spp.*, *Aspergillus spp.*, *Cryptococcus spp.*, Paramyxoviridae: вирусы парагриппа человека 1 – 4, Picornaviridae – вирусы Коксаки группы А и В, вирусы ЕСНО и др.)

Правила работы:

В помещения бактериологической лаборатории **нельзя** входить без специальной одежды — халата и белой шапочки или косынки.



Запрещается выходить за пределы лаборатории в халатах или надевать верхнее платье на халат.

Правила работы:



В помещении
бактериологической
лаборатории категорически
запрещается :

- курить,
- принимать пищу,
- хранить продукты питания.





Осторожно.
Биологическая
опасность
(инфекционные
вещества)



Доступ
посторонним
запрещен

Правила работы:

- **Весь материал**, поступающий в лабораторию, должен рассматриваться **как инфицированный**.
- При распаковке присланного материала необходимо соблюдать осторожность: банки, содержащие материал для исследования, при получении обтирают снаружи дезинфицирующим раствором и ставят не прямо на стол, а на подносы или в кюветы.

Основные приборы и оборудование микробиологических лабораторий.

- Микроскопы
- Ламинарный бокс
- Термостат
- Холодильник
- Автоклав
- Сухожаровой шкаф
- Центрифуги
- рН метр
- Спектрофотометр
- Водяная баня
- Весы и т.д.
- Газово-жидкостной хроматограф
- ИФА-анализатор
- Оборудование для ПЦР
- Анализатор бактериологический
- CO₂-инкубатор
- Автоматическая средоварка



План микробиологической лаборатории

Грязная зона

- помещение для приема и регистрации материала (проб);
- - боксированные помещения с предбоксами или помещения, оснащенные боксами биологической безопасности;
- - помещения для проведения бактериологических (вирусологических) исследований;
- - помещения для проведения иммунологических исследований;
- - помещение для люминесцентной микроскопии;
- - помещение для работы с лабораторными животными (заражение, вскрытие);
- - помещение для содержания инфицированных лабораторных животных;
- - помещения для ПЦР-диагностики;
- - термостатная комната;
- - помещение для обеззараживания (автоклавная)

С
А
Н
П
Р
О
П
У
С
К
Н
И
К

Чистая зона

- гардероб для верхней одежды;
- - помещения для проведения подготовительных работ (препараторская, моечная, приготовление и разлив питательных сред и др.);
- - помещение для стерилизации питательных сред и лабораторной посуды (стерилизационная);
- - помещение с холодильной камерой или холодильниками для хранения питательных сред и диагностических препаратов;
- - помещение для работы с документами и литературой;
- - помещение отдыха и приема пищи;
- - кабинет заведующего;
- - помещение для хранения и одевания рабочей одежды;
- - подсобные помещения;
- - туалет.

АВТОМАТИЧЕСКАЯ
СИСТЕМА ДЛЯ
ПОДГОТОВКИ
ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД



Стерилизация с помощью автоклава



Культивирование культур микроорганизмов в термостатах



Системы для культивирования анаэробов



ИФА анализатор



ПЦР диагностика Exicycler™ 96 Real-Time PCR

