

# Физиология микроорганизмов

*Питание*

*Дыхание*

*Размножение*

# ФИЗИОЛОГИЯ МИКРОБОВ

- изучает жизнедеятельность ми/о
- процессы питания и обмена
- дыхания
- роста и размножения
- взаимодействия с окружающей средой

# Изучение физиологии важно для:

- понимания патогенеза
- постановки м/б диагноза
- лечения и профилактики инф.заболеваний
- регуляции взаимоотношений человека с окружающей средой

# Мотивация к изучению физиологии микроорганизмов

- Смертность на планете увеличилась в 1,5-3 раза
- В США врачебные ошибки занимают 5 место среди причин смерти
- Причины врачебных ошибок:
  - 1) плохо собранный анамнез – 23%
  - 2) недостатки в клиническом обследовании - 20,3%
  - 3) недостатки в леч.-профилактических мероприятиях – 19%

«Если троечник средствами своей профессии не может заработать себе на хлеб, не выписывай ему диплом»  
слова Олега Табакова на выпуске актеров

# [ Бактерии отличаются: ]

- своеобразным химическим составом
- разнообразными типами питания
- способами получения энергии
- быстрым размножением
- высокой приспособляемостью и устойчивостью ко многим факторам окружающей среды

# Химическая структура бактерий

- по химическому составу существенных отличий про- и эукариотических клеток нет
- Химические элементы, входящие в состав живой материи, можно разделить на три основные группы:
  - **Биогенные химические элементы** (С, О, N, H). На их долю приходится 95% сухого остатка, в т.ч.  
50%- С, 20%- О, 15%- N, 10%- H
  - **Макроэлементы** - К, Na, Са, Mg, P, S, Cl. На их долю приходится около 5 %
  - **Микроэлементы** - Fe, Cu, I, Co, Mo и др. На их приходится доли процента, однако они имеют большое значение в обменных процессах

# **Химический состав бактерий**

- **Вода** - около 80 % ее массы
- **Белки** – 40 - 80 % сухой массы
- **Углеводы** –10 - 30%
- **Липиды** – 1- 30%
- **Нуклеиновые кислоты** –1- 30%
- **Биополимеры**

# [ Белки ]

- более 2000 белков
- состоящих из сочетаний 20 остатков обычных аминокислот и
- диаминопимелиновая кислота (ДАП)  
отсутствующая в клетках человека и ЖИВОТНЫХ

# [ Минеральные вещества ]

- в золе после сжигания клеток содержатся:  
фосфор, калий, натрий, сера, железо,  
кальций, магний
- а также микроэлементы:  
цинк, медь, кобальт, барий, марганец и др.

Микроорганизмы нуждаются:

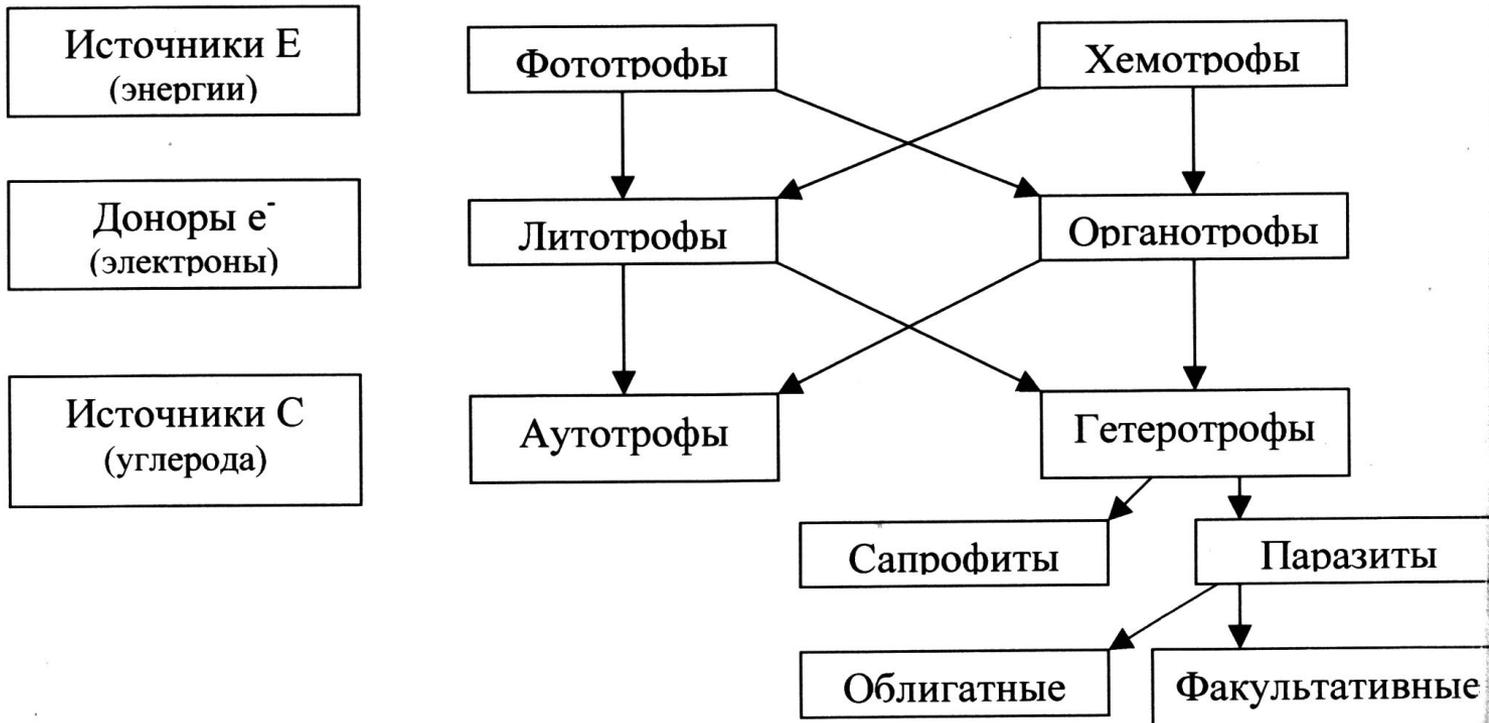
в углероде, азоте, сере, фосфоре, калии и др

# Физико-химические свойства бактерий

- **Плотность, вязкость** (больше вязкости воды в 3-800 раз)
- **Внутриклеточное осмотическое давление** (в 2 раза ниже, чем у клеток высших животных: в старых клетках 2-3 атм, в молодых 15-20 атм)
- **Проницаемость** (при 0,3-0,5% NaCl, но могут жить и расти в H<sub>2</sub>O, а в гипертоническом растворе NaCl или сахара – происходит плазмолиз и гибель, хотя стафилококк выдерживает высокую концентрацию соли)
- **Заряд** (отрицательный в нейтральной среде)
- **pH=7,0** (близко к нейтральному или слабощелочному - 7,2-7,4, но холерный вибрион щелочелюбив)

# Питание бактерий

## КЛАССИФИКАЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ ПО ТИПАМ ПИТАНИЯ



# [ Типы питания: ]

- По источникам углерода для питания бактерии делят на
- ауто- и гетеротрофы
- аутоотрофы (от греч. autos — сам, trophe — пища) использующие для построения своих клеток диоксид углерода CO<sub>2</sub> и др. неорганические соединения
- это нитрифицирующие бактерии - в почве
- серобактерии – в воде с сероводородом
- железобактерии – в воде с закисным железом

# Гетеротрофы

(от греч. heteros — другой, trophe — пища)  
питающиеся за счет готовых органических соединений, утилизирующие остатки отмерших организмов

- в окружающей среде – это сапрофиты

- у человека или животных - патогенные и условно-патогенные микроорганизмы, вызывающие заболевания

облигатные и факультативные паразиты (от греч. parasitos — нахлебник)

**облигатные внутриклеточные паразиты**  
способны существовать только внутри клетки (риккетсии, хламидии, некоторые простейшие)

# В зависимости от окисляемого субстрата

(называемого донором электронов или водорода)

- микробы делят на 2 группы:
- использующие в качестве доноров водорода неорганические соединения, называют **литотрофами** (от греч. lithos - камень)
- использующие органические соединения - **органотрофами**

# [ По источнику энергии ]

бактерии делятся на:

- **Фототрофы-**

фотосинтезирующие (сине-зеленые водоросли, использующие энергию света)

- **Хемотрофы -**

нуждающиеся в химических источниках энергии

# [ Факторы роста ]

- соединения, которые сами микробы синтезировать не могут, их добавляют в питательные среды

- это **аминокислоты** - для построения белков
- **пурины и пиримидины** - для образования нуклеиновых кислот
- **витамины** - входящие в состав ферментов

## По отношению к факторам роста

различают:

- **Ауксотрофы** - нуждаются в одном или нескольких факторах роста и
- **Прототрофы** - могут сами синтезировать нужные для роста соединения из глюкозы и солей аммония

# Метаболизм микроорганизмов

**Метаболизм** (обмен веществ и энергии) имеет две составляющих - **анаболизм** и **катаболизм**

- Анаболизм - синтез компонентов клетки (*конструктивный обмен*)

- Катаболизм - энергетический обмен, связан с окислительно-восстановительными реакциями, расщеплением глюкозы и др. органических соединений, синтезом АТФ

- Питательные вещества могут поступать в клетку в растворимом виде (это характерно для прокариотов) - *осмотрофы*, или в виде отдельных частиц - *фаготрофы*

# 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;

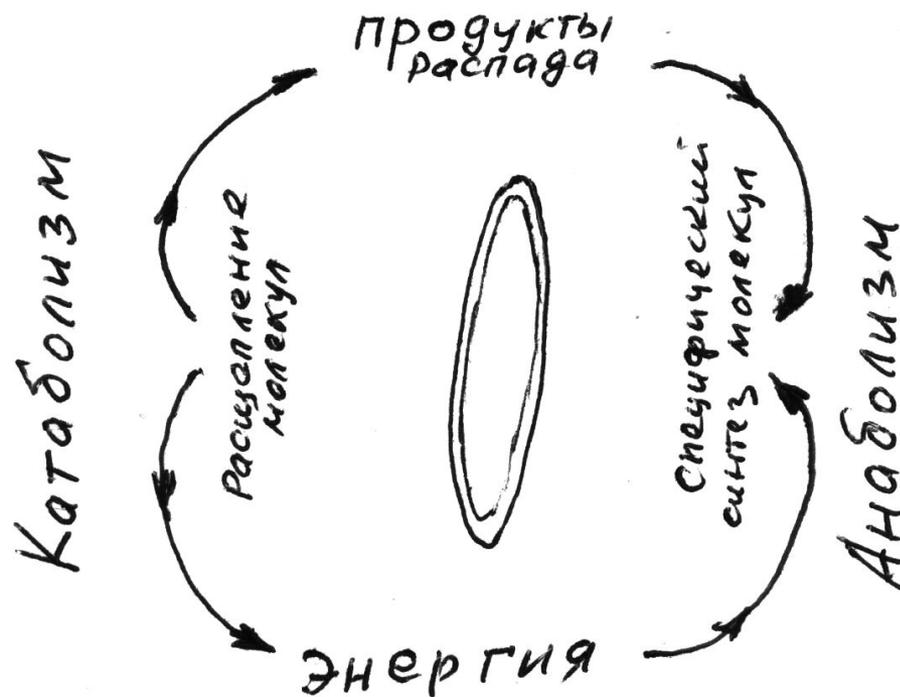
- - **облегченная диффузия** - по градиенту концентрации, субстратспецифичная, энергонезатратная, осуществляется при участии специализированных белков *пермеаз*;

- - **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 фосфотрансферной системы, энергозатратна, вещества (нр. сахара) поступают в клетку в фосфорилированном виде

# Питание микроорганизмов

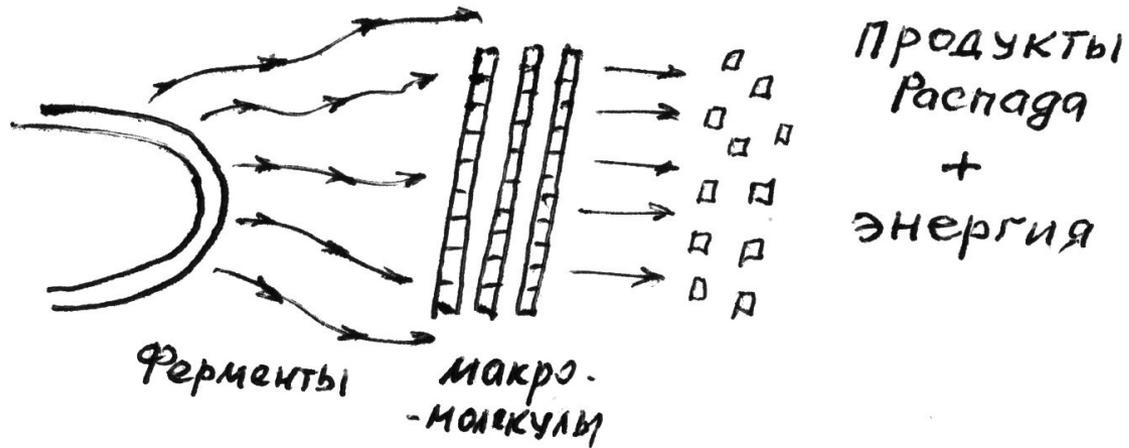
## Метаболизм микроорганизмов



# Метаболизм микробов

①

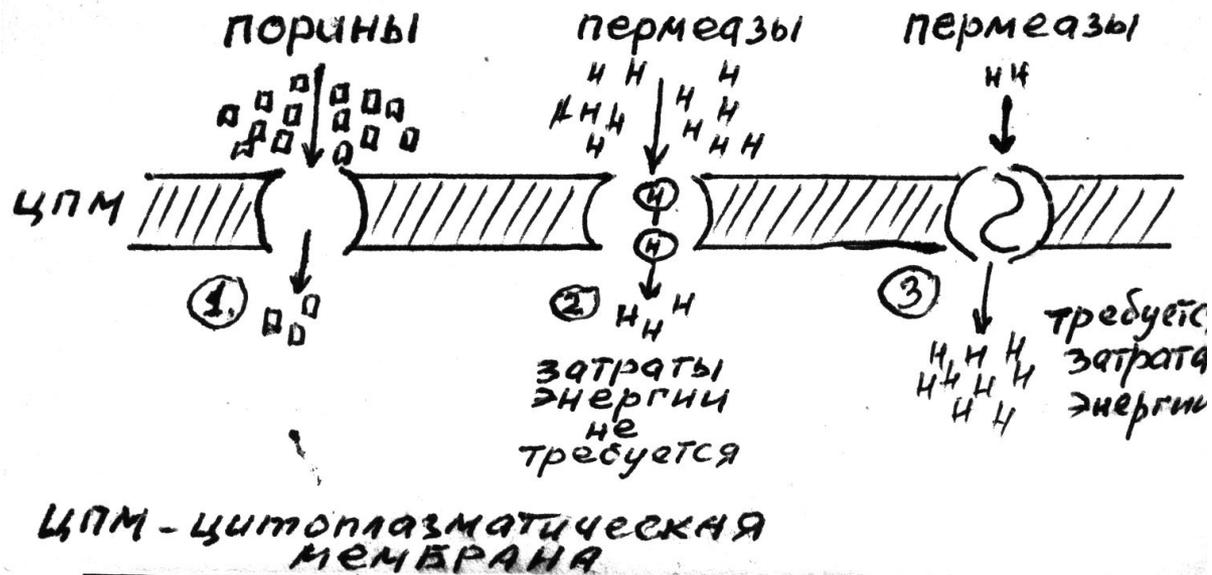
## Катаболизм



# Метаболизм микробов

②

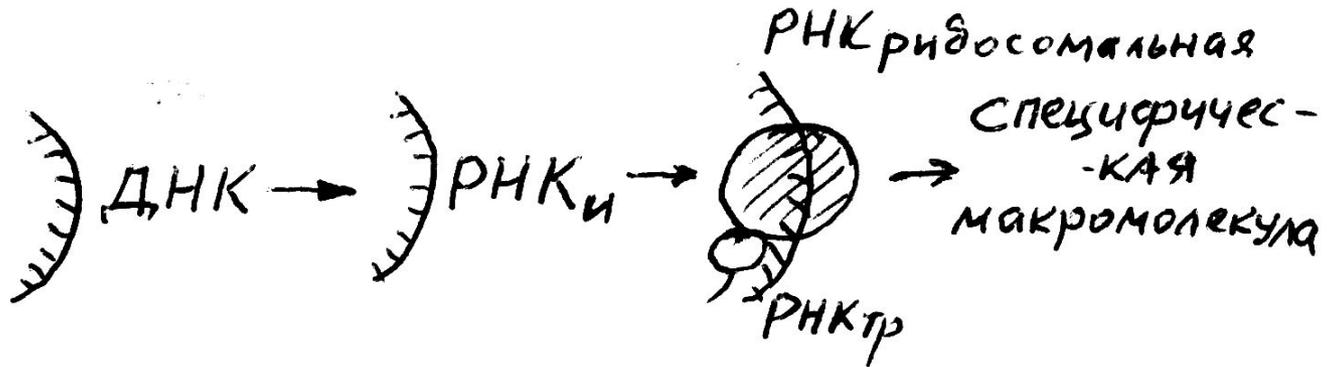
Поступление расщепленных  
веществ в клетку



# Метаболизм микробов

③ Усвоение (уподобление) веществ

СТРУКТУРАМИ ТЕЛА КЛЕТКИ



РНК<sub>и</sub> - РНК-информационная

РНК<sub>тр</sub> - РНК-транспортная

# [ **Механизмы питания** ]

4 механизма проникновения

питательных веществ в бакт. клетку:

- **1. Простая диффузия** осуществляется без затраты энергии
- **2. Облегченная диффузия** - с помощью молекул-переносчиков **пермеаз**, локализующихся в ЦПМ, протекает без затраты энергии, от более высокой концентрации к более низкой

# Механизмы питания

## 3. Активный транспорт

происходит с помощью пермеаз - перенос веществ в направлении от меньшей концентрации в сторону большей, как бы против течения», сопровождается затратой энергии АТФ

## 4. Перенос (транслокация) групп

сходен с активным транспортом, но переносимая молекула видоизменяется нр., фосфорилируется

## Выход веществ из клетки

осуществляется за счет диффузии и при участии транспортных систем

# Ферменты бактерий

- это белки, участвующие в анаболизме (синтезе) и катаболизме (распаде), т.е. в метаболизме бактерий
- Их более 2000, они объединены в 6 классов:
  - 1) **оксидоредуктазы** (оксидазы и дегидрогеназы, и др.);
  - 2) **трансферазы**,
  - 3) **гидролазы** (эстеразы, фосфатазы, глюкозидазы и др.)
  - 4) **лиазы**, (карбоксилазы и др.)
  - 5) **изомеразы**, (фосфогексоизомераза и др.)
  - 6) **лигазы, или синтетазы**

# Ферменты бактерий

- **Экзоферменты** выделяются клеткой в окружающую среду, расщепляя макромолекулы питательных субстратов
- **Эндоферменты** катализируют метаболизм, проходящий внутри клетки

# Ферменты бактерий

- В соответствии с механизмами генетического контроля у бактерий выделяют три группы ферментов:
- - **конститутивные**, синтез которых происходит постоянно
- - **индуцибельные**, синтез которых индуцируется наличием субстрата
- - **репрессибельные**, синтез которых подавляется избытком продукта реакции

# Микробиологическая (рабочая) классификация ферментов

- Сахаролитические
- Протеолитические
- Аутолитические
- Окислительно-восстановительные
- Ферменты патогенности (вирулентности)

Ферментный состав клетки определяется геномом и является достаточно постоянным признаком

# Ферменты агрессии

разрушают ткань и клетки:

Гиалуронилаза

- Коллагеназа

- ДНКа-за

- Нейраминидаза

- Лецитовителлаза и др.

**Различия в ферментном составе** используют для идентификации бактерий: изучают

- сахаролитические (расщепление сахаров),

- протеолитические (разложение белков) и др.

- выявляют по конечным продуктам расщепления образование щелочей, кислот, сероводорода, аммиака и др.)

# Сахаролитические свойства

определяют на **ДДС**:

- Гисса, Эндо, Левина, Плоскирева и др.

**Среды Гисса** (пестрый ряд) состоят из

- МПБ или полужидкого МПА
- углевода (лактозы, маннита и др.) и
- индикатора, меняющего цвет при расщеплении углевода с образованием КИСЛОТЫ

# Среда Эндо

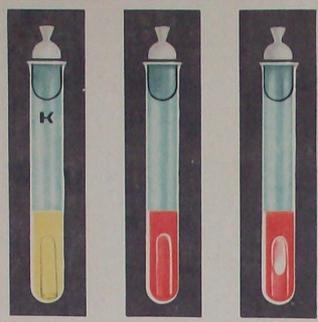
- МПА с лактозой и индикатором на pH
- Бактерии, расщепляющие лактозу  
с кислотообразованием – лак «+» (E.coli)  
образуют колонии красного цвета  
с металлическим блеском на среде Эндо  
или темно-синие на среде Левина
- Бактерии, не расщепляющие лактозу  
лак «-» (сальмонеллы, шигеллы), образуют  
неокрашенные колонии на среде Эндо

# [ Протеолитические свойства ]

определяют по:

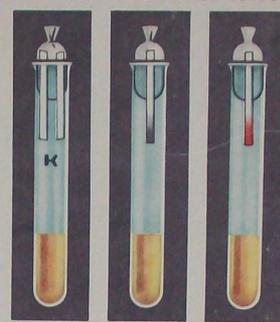
- разжижению желатина и
- продуктам разложения белка в МПБ  
- индола, сероводорода, аммиака
  
- делают посев «уколом» в столбик желатина
- и в МПБ с индикаторами продуктов расщепления белка

ОПРЕДЕЛЕНИЕ САХАРОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

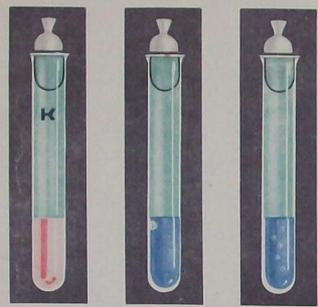


1- КИСЛОТА  
2- КИСЛОТА, ГАЗ

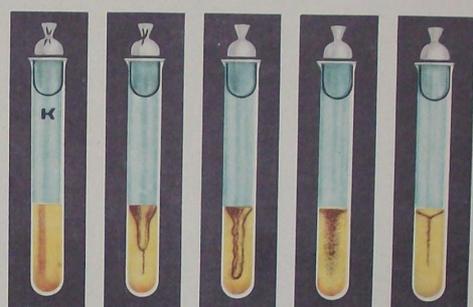
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ



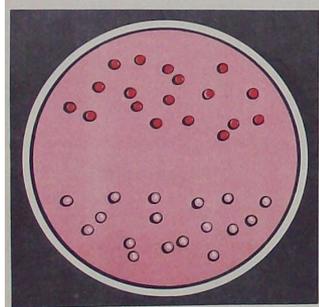
1- СЕРОВОДОРОД  
2- ИНДОЛ  
К- КОНТРОЛЬ



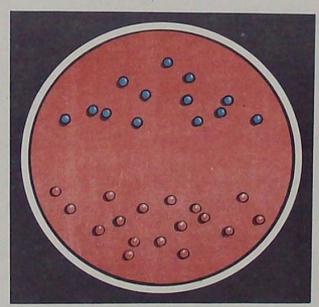
СРЕДЫ ГИССА



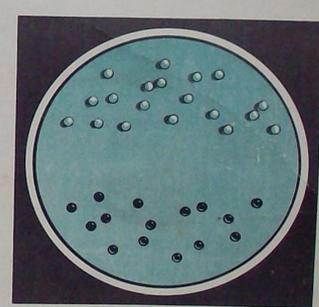
РАЗЖИЖЕНИЕ ЖЕЛАТИНА



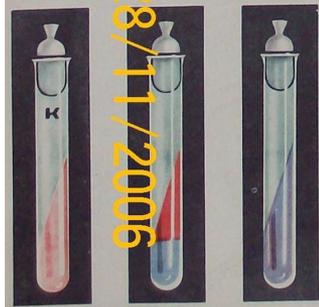
СРЕДА ЭНДО



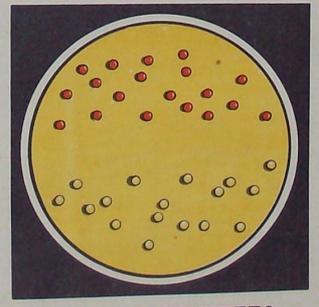
СРЕДА ЛЕВИНА



ВИСМУТ-СУЛЬФИТ АГАР



СРЕДА РОЗЕНБЕРГА



СРЕДА ПЛОСКИРЕВА



СРЕДА КЛАУБЕРГА

28/11/2006

# Дыхание микроорганизмов

Путем дыхания микроорганизмы добывают энергию

- **Дыхание** - биологический процесс переноса электронов через дыхательную цепь от доноров к акцепторам с образованием АТФ
- В зависимости от конечного акцептора электронов выделяют ***аэробное и анаэробное дыхание***
- при аэробном дыхании конечный акцептор электронов - молекулярный кислород (O<sub>2</sub>),
- при анаэробном - связанный кислород (-NO<sub>3</sub>, =SO<sub>4</sub>, =SO<sub>3</sub>)

# Дыхание микроорганизмов

## КЛАССИФИКАЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ ПО ТИПАМ ДЫХАНИЯ



# [ Дыхание микроорганизмов ]

- Аэробное дыхание      донор водорода       $O_2$   
 $H_2O$
- Анаэробное дыхание
- нитратное окисление       $NO_3$   
(факультативные анаэробы)      донор водорода       $N_2$
- сульфатное окисление       $SO_4$   
(облигатные анаэробы)      донор водорода       $H_2S$

# По типу дыхания выделяют 4гр.ми/о

- **Облигатные (строгие) аэробы.** Им необходим молекулярный (атмосферный) кислород для дыхания (сарцины, холерный вибрион, микобактерии туберкулеза и др.)
- **Микроаэрофилы** нуждаются в уменьшенной концентрации (низком парциальном давлении) свободного кислорода (молочнокислые бактерии, актиномицеты, лептоспиры и др.). В газовую смесь для культивирования добавляют CO<sub>2</sub> (до 10%)
- **Факультативные анаэробы** могут потреблять глюкозу и размножаться в аэробных и анаэробных условиях (большинство сапрофитных, патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, типичный представитель - кишечная палочка)
- **Облигатные (строгие) анаэробы** размножаются только в анаэробных условиях, при очень низких концентрациях молекулярного кислорода, который в больших концентрациях для них губителен (бактероиды, клостридии ботулизма, возбудители газовой гангрены, столбняка и др.)

# Аэротолерантные микроорганизмы

- выделяют среди *факультативных анаэробов*, они толерантны к относительно высоким (близких к атмосферным) концентрациям молекулярного кислорода
- выделяют также микроорганизмы, которые способны в определенных условиях переключаться с анаэробного на аэробное дыхание
- Биохимически анаэробное дыхание протекает по типу бродильных процессов, молекулярный кислород при этом не используется
- Аэробное дыхание энергетически более эффективно (синтезируется большее количество АТФ)

# [ Оксидоредуктазы ]

катализируют окислительно-восстановительные реакции

- окислительные ферменты типа оксидаз – активируют кислород, а
- дегидрогеназы – активируют водород
- ферменты связаны с ЦПМ и интенсивность окислительных процессов зависит от возраста культуры, питательных субстратов, температуры, *окислительно-восстановительного потенциала (ОВП или  $rH_2$ )*

# При аэробном дыхании

- образуются токсические продукты окисления ( $H_2O_2$ - перекись водорода,  $\cdot O_2$  - свободные кислородные радикалы), от которых защищают специфические ферменты, прежде всего каталаза, пероксидаза, пероксиддисмутаза

- у анаэробов эти ферменты отсутствуют, также как и *система регуляции ОВП ( $rH_2$ )*

## Измерение ОВП

- колориметрическое (с помощью Redox - индикаторов)

- электрометрическое (электроды и потенциометр)

## Методы создания анаэробных условий для культивирования ми/о

- **Физические** - откачивание воздуха, введение специальной газовой безкислородной смеси (чаще-  $N_2$ - 85%,  $CO_2$ - 10%,  $H_2$ - 5%)
- **Химические** - применяют химические поглотители кислорода
- **Биологические** - совместное культивирование аэробов и анаэробов (аэробы поглощают  $O_2$  и создают условия для размножения анаэробов)
- **Смешанные методы** - используют несколько разных подходов

## Приемы, обеспечивающие анаэробные условия:

- **кипячение** питательных сред

- **посев в глубокий столбик агара**

- **заливка сред вазелиновым маслом** для сокращения доступа O<sub>2</sub>

- **Использование:**

- герметически закрывающихся флаконов, пробирок и лабораторной **посуды с инертным газом**

- плотно закрывающихся **эксикаторов** с горящей свечой

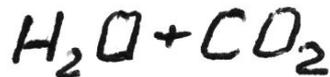
- специальных приборов для создания анаэробных условий - **анаэроустатов**

- простой и эффективной **системы “Газпак”** со специальными газорегенерирующими пакетами

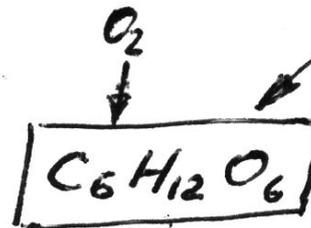
# Дыхание микроорганизмов

## Дыхание

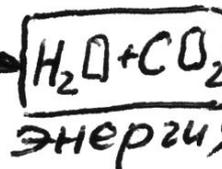
Источник энергии  
для биосферы  
солнце



Фототрофные  
организмы  
(хлорофиты)



Органоотрофные  
бактерии



тепло

Работа  
АТФ

Бактерии используют  
для работы энергию  
хим. связей атомов в  
молекулах.

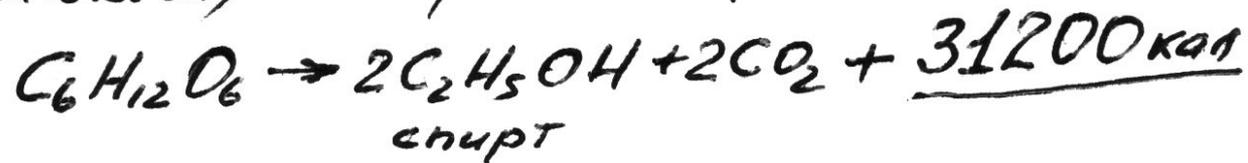
# Дыхание микроорганизмов

## Типы дыхания (биологического окисления)

Полное (аэробное) окисление субстрата  
(глюкозы) пекарскими дрожжами



Неполное (анаэробное) окисление субстрата  
(глюкозы) пекарскими дрожжами



# Дыхание микроорганизмов

Окислительно-восстановительный потенциал - ОВП ( $\varphi_{H_2}$ )

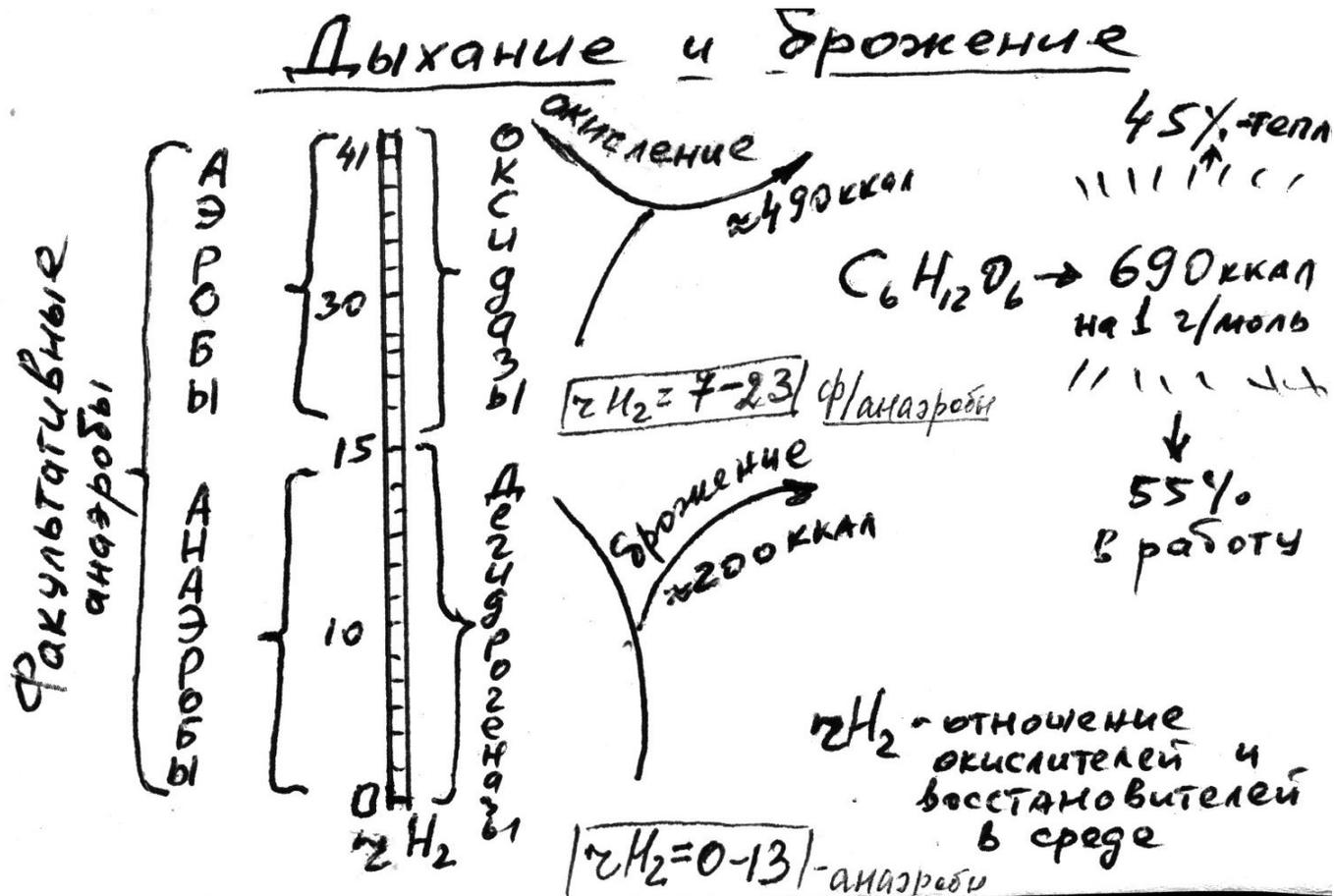
$$\text{ОВП}(\varphi_{H_2}) = \frac{m \text{ окислителей}}{n \text{ восстановителей}} = \frac{m O_2}{m H_2}$$

$\varphi_{H_2} = -\lg P_{H_2} (0-20-41)$  в узких значениях ОВП активны все дыхательные ферменты.

- символ  $\varphi_{H_2}$  введён Кларком, как отрицательный логарифм давления молекулярного водорода по аналогии с рН, как отрицательный логарифм концентрации водородных ионов

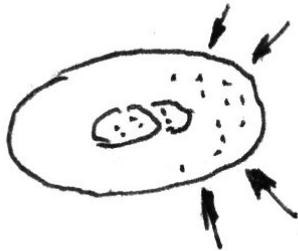
$$pH = -\lg H^+ (0-7-14)$$

# Дыхание микроорганизмов

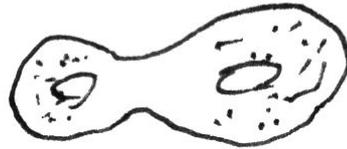


# Рост и размножение микроорганизмов

## Рост и деление клеток бактерии



Рост асимметричен  
(одним концом)



Деление  
асимметрично



I гетерогенная  
"Мама"  
"Дочка"



После  
отделения  
растут  
навстречу  
друг  
другу

# Рост и размножение микроорганизмов

Время генерации -  $t = A + B + C$

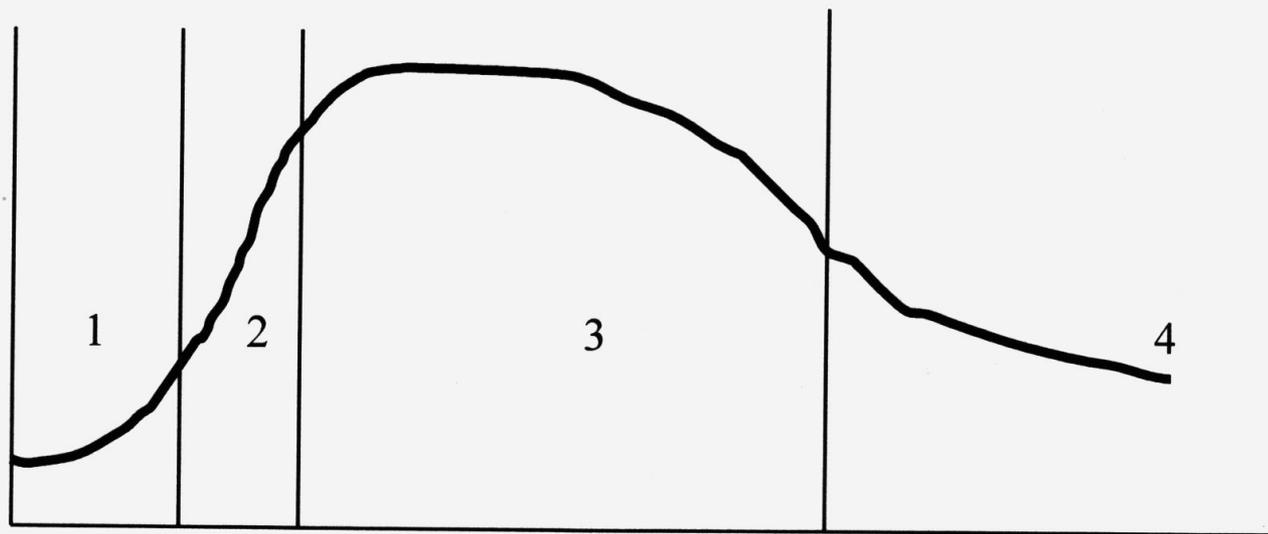
$t$  - время от рождения клетки до отделения "дочки" (вариабельно)

$A$  - время от рождения клетки до начала репликации ДНК (вариабельно)

$B$  - время репликации молекул ДНК (стабильно, ≈ 40 мин)

$C$  - время от окончания репликации ДНК до отделения дочерней клетки (вариабельно)

# Рост и размножение микроорганизмов



Размножение бактерий: 1- лаг-фаза; 2 – логарифмическая фаза; 3- стационарная фаза; 4 – фаза отмирания бактерий

# Рост и размножение микроорганизмов

■ 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  $m/n(2 \text{ в степени } n)$

■ - **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 рН,  $rH_2$ , концентрации ионов и других условий культивирования)

## Культивирование микроорганизмов

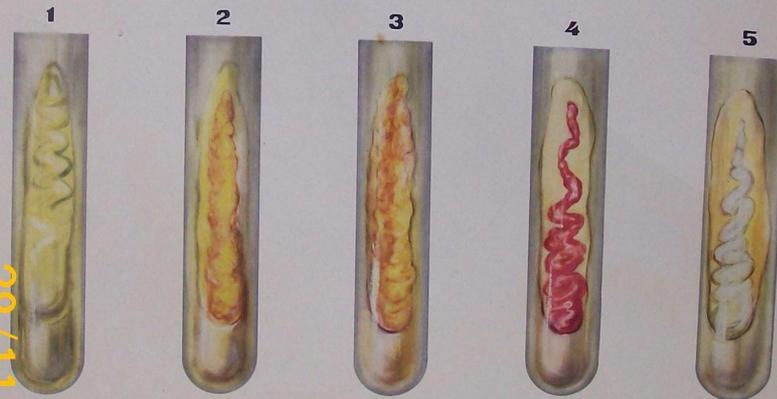
- Данная динамика характерна для **периодических культур** с постепенным истощением запаса питательных веществ и накоплением метаболитов
- Если в питательной среде создают условия для поддержания микробной популяции в экспоненциальной фазе - это **хемотратные (непрерывные) культуры**

# Характер роста бактерий на питательных средах

- **на плотных средах** - сплошной рост или образование колоний
- колонии можно описать рядом характеристик - форма, размер, поверхность, профиль, прозрачность, цвет, край, структура, консистенция
- **на жидких средах** наблюдают помутнение (чаще - факультативные анаэробы)
- поверхностный рост в виде пленок (аэробные прокариоты)
- пристеночный, придонный рост, образования различных по характеристикам осадков



**КОЛОНИИ БАКТЕРИЙ**



**ПИГМЕНТЫ**

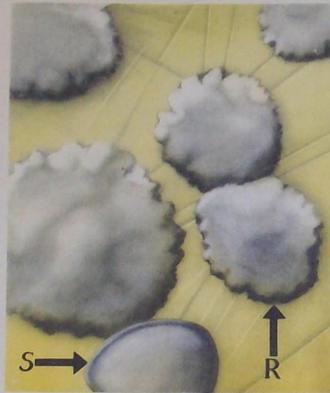
- 1. *Pseudomonas aeruginosa*
- 2. *Sarcina flava*
- 3. *Staphylococcus aureus*
- 4. *Serratia marcescens*
- 5. *Staphylococcus epidermidis*

28/11/2006

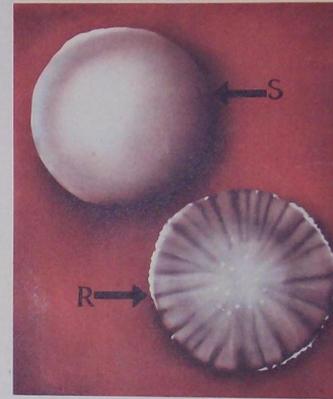
# ОСНОВНЫЕ СВОЙСТВА МИКРОБНЫХ КЛЕТК ИЗ S-и R-КОЛОНИЙ

S-тип	R-тип
<p>КОЛОНИИ ГЛАДКИЕ, ПРАВИЛЬНЫЕ, ВЫПУКЛЫЕ</p> <p>КЛЕТКИ НОРМАЛЬНОЙ МОРФОЛОГИИ</p> <p>У ПОДВИЖНЫХ ВИДОВ ЕСТЬ ЖГУТИКИ</p> <p>У КАПСУЛЬНЫХ ВИДОВ ХОРОШО ВЫРАЖЕНЫ КАПСУЛЫ</p> <p>БИОХИМИЧЕСКИ БОЛЕЕ АКТИВЕН</p> <p>В АНТИГЕННОМ ОТНОШЕНИИ ПОЛНОЦЕНЕН</p> <p>У ПАТОГЕННЫХ ВИДОВ ВИРУЛЕНТНОСТЬ ВЫРАЖЕНА</p>	<p>КОЛОНИИ ШЕРОХОВАТЫЕ, НЕРАВНЫЕ, УПЛОЩЕННЫЕ</p> <p>КОРОТКИЕ И КОККОВИДНЫЕ ФОРМЫ</p> <p>У ПОДВИЖНЫХ ВИДОВ ЖГУТИКИ МОГУТ ОТСУТСТВОВАТЬ</p> <p>КАПСУЛЫ ОТСУТСТВУЮТ</p> <p>БИОХИМИЧЕСКИ МЕНЕЕ АКТИВЕН</p> <p>В АНТИГЕННОМ ОТНОШЕНИИ НЕ ПОЛНОЦЕНЕН</p> <p>ВИРУЛЕНТНОСТЬ СЛАБО ИЛИ СОВСЕМ НЕ ВЫРАЖЕНА</p>

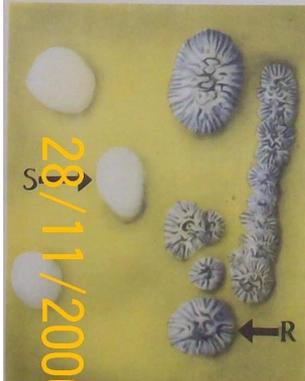
## ГЛАДКИЕ (S) И ШЕРОХОВАТЫЕ (R) КОЛОНИИ



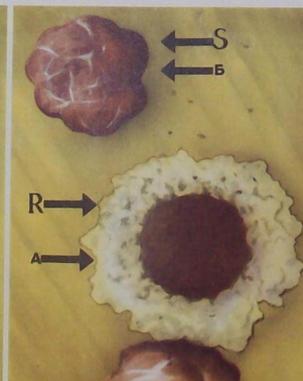
ДВА ТИПА КОЛОНИЙ ШИГЕЛЛ ЗОННЕ



КОЛОНИИ ДИФТЕРИЙНОЙ ПАЛОЧКИ



ГЛАДКИЕ (S) И ШЕРОХОВАТЫЕ (R) КОЛОНИИ ДРОЖЖЕПОДОБНЫХ ГРИБОВ



S и R-ФОРМЫ КОЛОНИЙ ЧУМНОЙ ПАЛОЧКИ, А - КРУЖЕВНАЯ ЗОНА, Б - ОТСУТВИЕ КРУЖЕВНОЙ ЗОНЫ



КОЛОНИИ МИКРОБАКТЕРИЙ ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ТИПА (R), БЫЧЬЕГО ТИПА (S)

28/11/2006

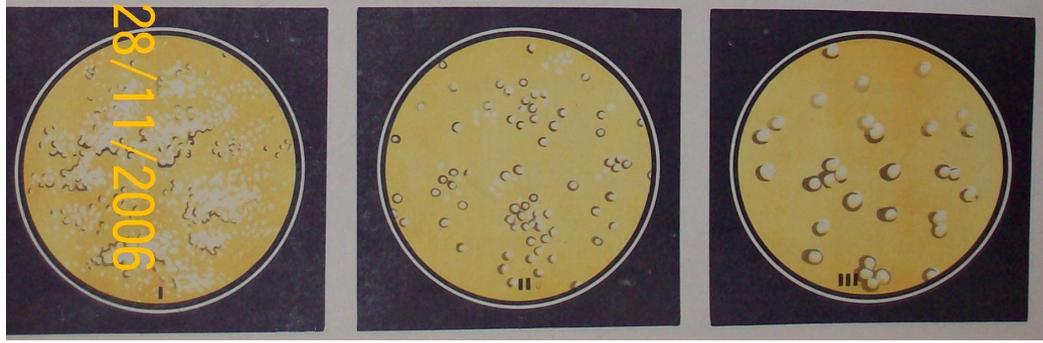
# Культивирование микроорганизмов

- Чистая культура - популяция одного вида микроорганизмов
- Основные принципы получения чистых культур:
- механическое разобщение, рассев
- серийные разведения
- использование селективных сред
- создание особых условий культивирования (с учетом устойчивости некоторых микробов к определенным температурам, кислотам, щелочам, парциальному давлению кислорода, рН и др).

# Культивирование микроорганизмов

Классические методы получения чистых культур

- **Пастера** (разведения в жидкой среде)
- **Коха** (пластинчатые разводки)
- Шукевича (ползучий рост)
- Дригальского (посев одним шпателем последовательно в три чашки Петри)
- Вейнберга (для анаэробов - заливают агаровую среду сверху смесью парафина и вазелинового масла)



# ВЫДЕЛЕНИЕ ЧИСТЫХ КУЛЬТУР АНАЭРОБОВ



28/11/2006

# Культивирование микроорганизмов

## Основные условия культивирования микроорганизмов на питательных средах

- Использование всех необходимых для соответствующих микробов питательных компонентов

- Оптимальные температура, pH, rH<sub>2</sub>, концентрация ионов, степень насыщения кислородом, газовый состав и давление

- Ми/о культивируют на питательных средах при оптимальной температуре в термостатах, обеспечивающих условия инкубации

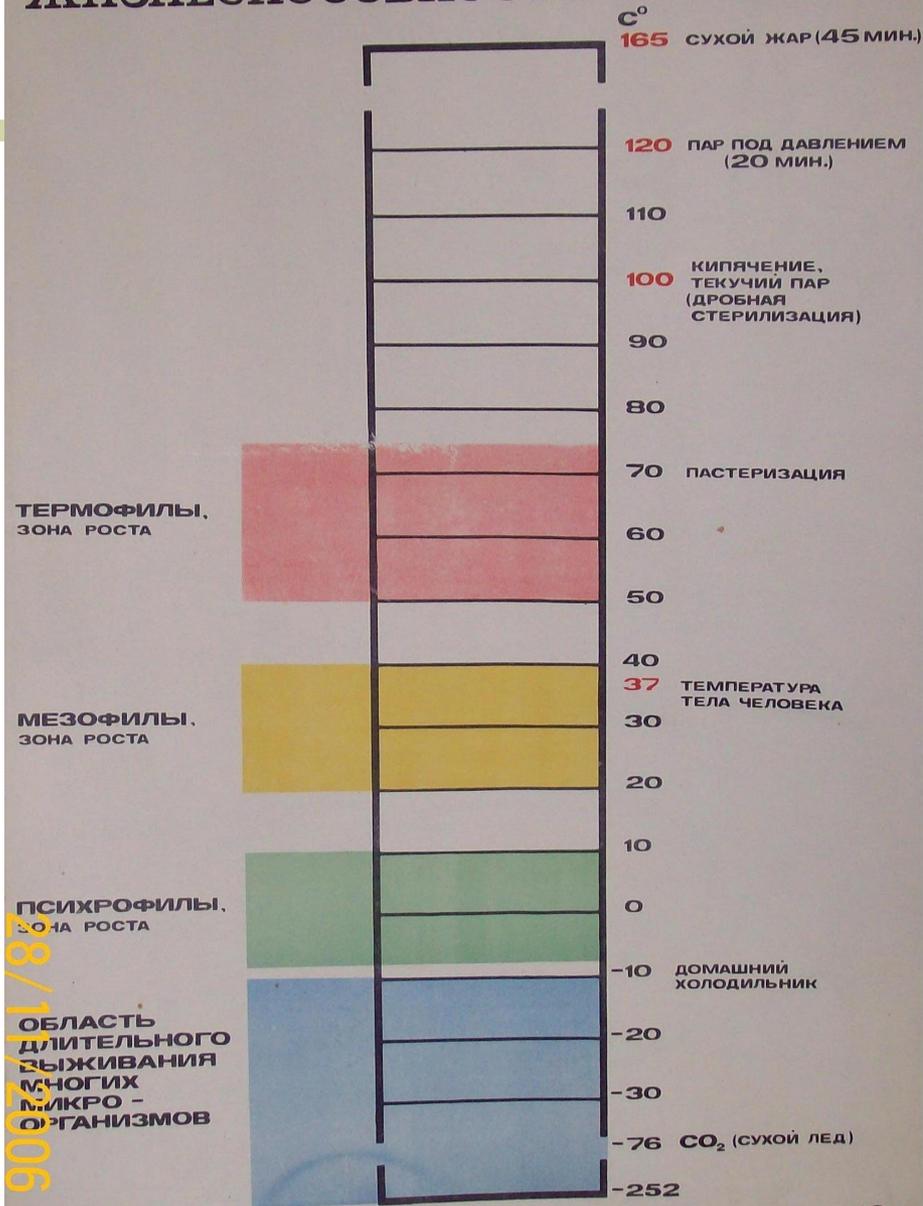
- По температурному оптимуму роста выделяют три основные группы микроорганизмов:

- **Психрофилы** - растут при температурах **ниже +20** градусов Цельсия

- **Мезофилы** - растут в диапазоне температур **от +20 до +45** градусов

- **Термофилы** - растут при температурах **выше + 45** градусов

# ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУР НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ МИКРОБОВ



## Краткая характеристика питательных сред

■ По консистенции выделяют:

■ жидкие

■ плотные (1,5- 3% агара) и

■ полужидкие (0,3- 0,7 % агара)

■ *Агар*- полисахарид сложного состава из морских водорослей, основной отвердитель для плотных (твердых) сред

■ *Пептоны*- продукты ферментации белков пепсином, универсальный источник углерода и азота. Применяют различные *гидролизаты* - мясной, рыбный, казеиновый, дрожжевой и др.

## По назначению среды разделяют:

- - **универсальные (простые)**, пригодные для различных нетребовательных микроорганизмов (мясо - пептонный бульон - МПБ, мясо - пептонный агар - МПА)
- - **специальные** - среды для микроорганизмов, не растущих на универсальных средах (среда Мак - Коя на туляремию, среда Левенштейна- Иенсена для возбудителя туберкулеза)
- - **дифференциально- диагностические** - для дифференциации микроорганизмов по ферментативной активности и культуральным свойствам (среды Эндо, Плоскирева, Левина, Гисса)
- - **селективные и элективные** - для выделения определенных видов микроорганизмов и подавления роста сопутствующих - пептонная вода, селенитовая среда, среда Мюллера
- По происхождению среды делят на естественные, полусинтетические и синтетические.

# Методы воздействия на микроорганизмы

**по виду использованного фактора** можно разделить на

- физические и
- химические

**по характеру воздействия** на:

- неизбирательные (обеззараживание - дезинфекция, стерилизация) и
- избирательные (химиотерапевтические)

# Методы воздействия на микроорганизмы

## *Физические методы*

- **Термическая обработка** - прокаливание, кипячение, пастеризация, автоклавирование
- **Облучение** - ультрафиолетовое, гамма - и рентгеновское, микроволновое
- **Фильтрование** (оптимально - бактериологические фильтры с диаметром пор около 200 нм)

# Методы воздействия на микроорганизмы

## *Химические методы*

- **Неспецифического действия** - *дезинфектанты* (обработка помещений и др., *антисептики* - обработка живых тканей). Среди них - препараты йода и хлора, спирты, альдегиды, кислоты и щелочи, соли тяжелых металлов, катионные детергенты, фенолы, окислители, природные препараты - деготь, ихтиол, хлорофиллипт
- **Избирательно подавляющие жизнедеятельность микроорганизмов** - антибиотики и химиотерапевтические препараты









# Антагонизм микробов Антибиотики

WWW.antibiotic.ru

# АНТИБИОТИКИ



МИКРОБНЫЙ АНТАГОНИЗМ



28/11/2006  
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ БАКТЕРИЙ  
К АНТИБИОТИКАМ

# Антагонизм (конкуренция) микробов

- - неблагоприятное воздействие одного вида ми/о на другой (бактериостатическое или бактерицидное)
- впервые наблюдал Л.Пастер в 1887г. (бактерии сибирской язвы погибали рядом с гнилостными бактериями)
- микробы антагонисты повсюду : в почве, воде, воздухе, организме человека и животных

# Проявления антагонизма:

- прямое воздействие друг на друга – насильственный (голодный) антагонизм
- выделение неспецифических продуктов обмена (кислоты, щелочи, спирты, перекиси, аммиак и др.), действующих подобно антисептикам
- продукция бактериоцинов – белково-подобных веществ, подавляющих особей гомологичных или близких видов
- взаимоотношение бактериофага и бактерии
- взаимоотношение между вирусами – явление интерференции
- выделение при росте летучих метаболитов – сильный запах угнетает рост других микроорганизмов
- образование антибиотиков – специфических продуктов обмена, подавляющих других микробов (межвидовые средства)

# МЕХАНИЗМЫ АНТАГОНИЗМА

- изменение физико-химических свойств среды
- выработка специфических средств борьбы направленного действия - каннибализм
- выработка бактериоцинов
- борьба за питательный субстрат

# ["Жизнь - против жизни"]

Термин "антибиос" (греч. anti-против+bios жизнь), предложен Л. Пастером, вложившим в него смысл "жизнь - против жизни", а не дословно "против жизни»

Эре антибиотикотерапии предшествовал период разработки антимикробных химиопрепаратов

Немецкий микробиолог **Герхард Домагк**  
За открытие первого антибактериального препарата пронтозила (сульфаниламида) в 1939 году получил Нобелевскую премию

# Немецкий ученый Пауль Эрлих



- на основе органических соединений мышьяка синтезировал **сальварсан** для лечения сифилиса (лат. *salvare* - спасти и *arsenicum* - мышьяк)
- в 1908 году удостоен Нобелевской премии

# Английский микробиолог Александр Флеминг



- в 1929 году открыл плесень **Penicillium notatum**, которая угнетала рост стафилококков

-фильтрат культуральной жидкости назвал **пенициллином** (лат. penicillium - плесень)

# История открытия антибиотиков

## ■ Английские ученые **Флори и Чейн**

в 1940 году в Оксфордском университете, из грибка, предоставленного им А. Флемингом, получили малотоксичный и эффективный пенициллин: Эрнст Чейн занимался выделением пенициллина, а Говард Флори - испытанием его на животных

в 1945 году А. Флеминг, Г. Флори и Э. Чейн удостоены Нобелевской премии

# Зинаида Виссарионовна Ермольева



- В 1942 получила отечественный пенициллин
- из шт. **Penicillium crustosum**
- который оказался продуктивнее английских и американских штаммов

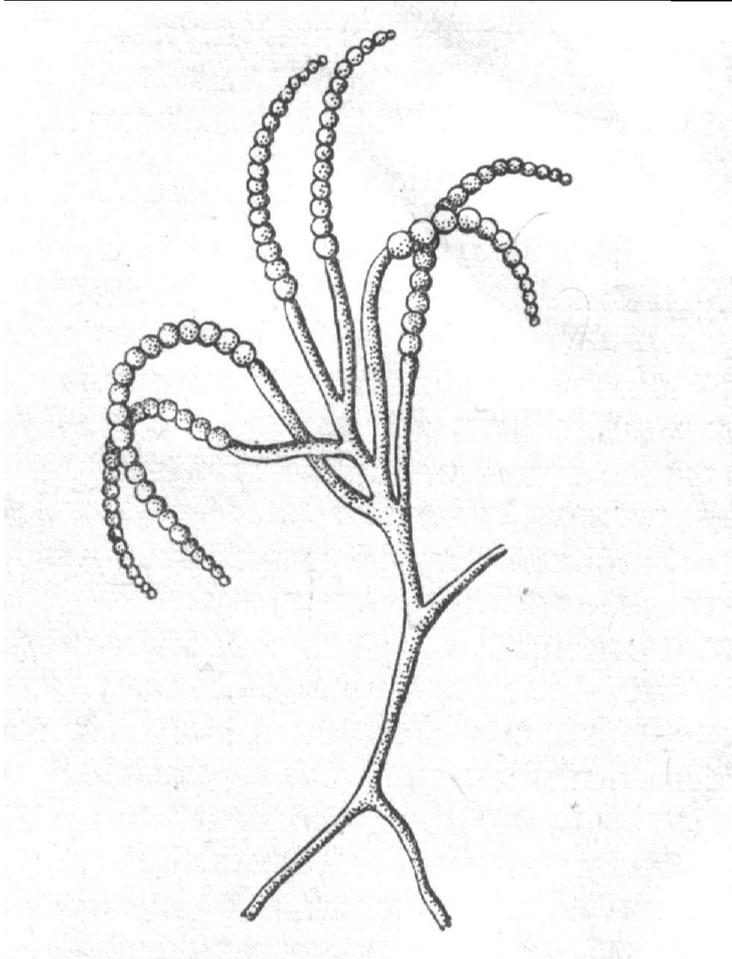
# Соломон Яковлевич Ваксман

## американский микробиолог



- в 1942 году ввел термин **антибиотики** вещества, вырабатываемые микроорганизмами для уничтожения или нарушения развития других микроорганизмов-противников

В 1943 году С. Я. Ваксман



из актиномицетов  
группы Streptomyces  
впервые выделил  
**стрептомицин**

В 1952 году за  
открытие  
стрептомицина ему  
присуждена  
**Нобелевская  
премия**

## История открытия антибиотиков

- В 1952 году **Мак Гир** из актиномицета (*Streptomyces erithreus*), выделенного на Филиппинских островах, извлек **новый антибиотик - красную соль, получивший название эритромицин**

- Американский химик-органик **Роберт Бернс Вудворд** осуществил синтез **цефалоспорины С**  
в 1965 году удостоен Нобелевской премии

# Классификация антибиотиков

ПО ПРОИСХОЖДЕНИЮ: 5 групп

(полученные из грибов, или бактерий, растительного или животного происхождения, синтетические)

ПО НАПРАВЛЕННОСТИ ИНГИБИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ: 4 группы  
(антибактериальные, антифунгицидные, противопротозойные, противоопухолевые)

ПО ХИМИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЕ: 8 групп

(беталактамы, макролиды, аминогликозиды, тетрациклины, полипептиды, полиены, анзамицины, левомицетин и др.)

ПО МЕХАНИЗМУ ДЕЙСТВИЯ: 4 группы

нарушающие (синтез клеточной стенки, молекулярную организацию и синтез клеточных мембран, синтез белка и нуклеиновых кислот)

# Классификация антибиотиков

- СИНТЕЗ КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ ИНГИБИРУЮТ  
Пенициллины, Цефалоспорины, Циклосерин
- НАРУШАЮТ ФУНКЦИЮ ЦПМ  
Нистатин, Леворин, Грамицидин
- СИНТЕЗ БЕЛКА НА РИБОСОМАХ ИНГИБИРУЮТ  
Аминогликозиды, Макролиды, Тетрациклины
- НА ДНК-зависимую РНК-полимеразу действуют  
Митомицин С, Новобиоцин

# ПОБОЧНОЕ ДЕЙСТВИЕ АНТИБИОТИКОВ

## *Для макроорганизма:*

- токсическое действие
- аллергические реакции
- иммунодепрессивное действие
- вызывают дисбактериоз
- эндотоксический шок

## *Для микроорганизмов:*

- формирование атипичных форм микробов
- образование а/б резистентных и а/б зависимых форм микроорганизмов

# МЕХАНИЗМ УСТОЙЧИВОСТИ БАКТЕРИЙ К АНТИБИОТИКАМ

- Синтез ферментов, разрушающих антибиотики
- Включение коллатеральных путей обмена
- Изменение структуры рецепторных зон оболочек клетки
- Образование L-форм

# Требования к антибиотикам

Существуют требования ограничивающие применение антибиотиков:

- **эффективность** в низких концентрациях, выраженный бактериостатический и (или) бактерицидный эффект
- **стабильность** в организме и в различных условиях хранения
- **низкая токсичность** или ее отсутствие
- **отсутствие побочных эффектов**, прежде всего - иммунодепрессивного действия

# Методы определения чувствительности к антибиотикам

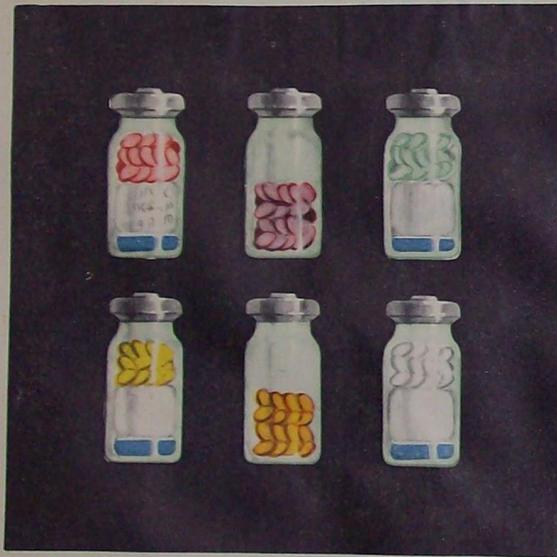
*Из-за формирования антибиотикоустойчивых популяций микроорганизмов с целью эффективного лечения необходимо предварительно определять чувствительность выделенной культуры возбудителя к антибиотикам*

- *in vitro* - метод серийных разведений, диффузии в агар (бумажных *дисков*), определение способности к продукции бета - лактамазы

- *in vivo* - на модели безмикробных животных, определение концентрации антибиотиков в крови и моче

# ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ БАКТЕРИЙ К АНТИБИОТИКАМ

## МЕТОД ИНДИКАТОРНЫХ ДИСКОВ



28/11/2006

# **Метод диффузии в агар**

- с применением стандартных дисков, пропитанных различными антибиотиками в определенных концентрациях
- Оценка результатов связана с существованием зависимости между размером зоны подавления роста исследуемых культур вокруг дисков и значениями минимальных подавляющих концентраций (МПК) соответствующих антибиотиков (чувствительностью микроорганизмов)
- имеются специальные таблицы для оценки результатов, в соответствии с которыми культуры определяют как чувствительные, умеренно устойчивые и устойчивые (резистентные) к тестируемому антибиотику

# *Метод серийных разведений*

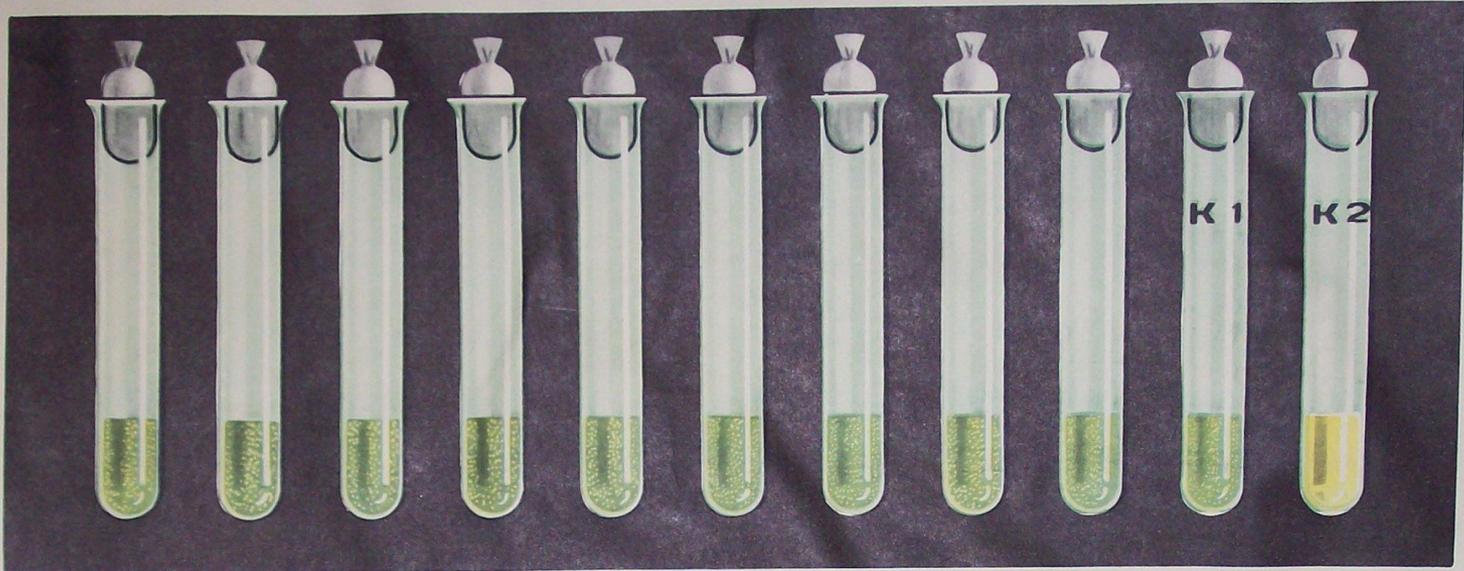
позволяет более точно определить МПК, однако из-за громоздкости применяется реже

- *Бета - лактамазный тест* (определение способности к образованию бета - лактамаз) чаще определяют методом дисков с *нитроцефином* - цефалоспорином, изменяющим окраску дисков при гидролизе. Положительный тест свидетельствует о резистентности бактерий ко всем антибиотикам, имеющим в структуре бета - лактамное кольцо

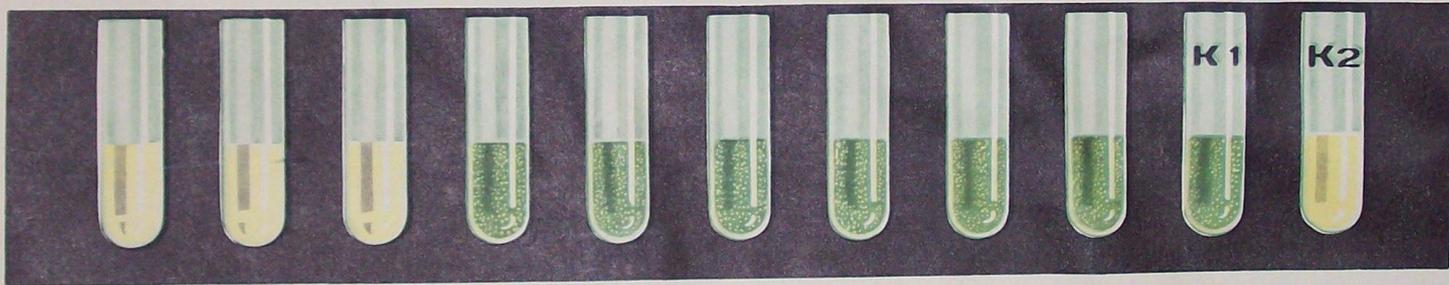
- Существует ряд причин, обуславливающих различную чувствительность микроорганизмов к антибиотикам *in vitro* и *in vivo*

# МЕТОД СЕРИЙНЫХ РАЗВЕДЕНИЙ

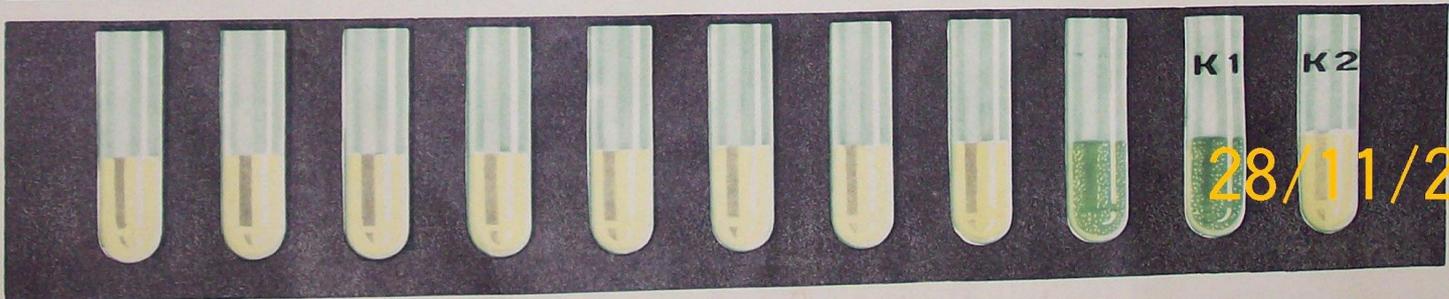
1



2



3



28/11/2006

# Антимикробная активность антибиотиков

На антимикробную активность **in vitro** влияют многие факторы:

- рН среды
- компоненты среды
- концентрация микроорганизмов
- условия и время культивирования



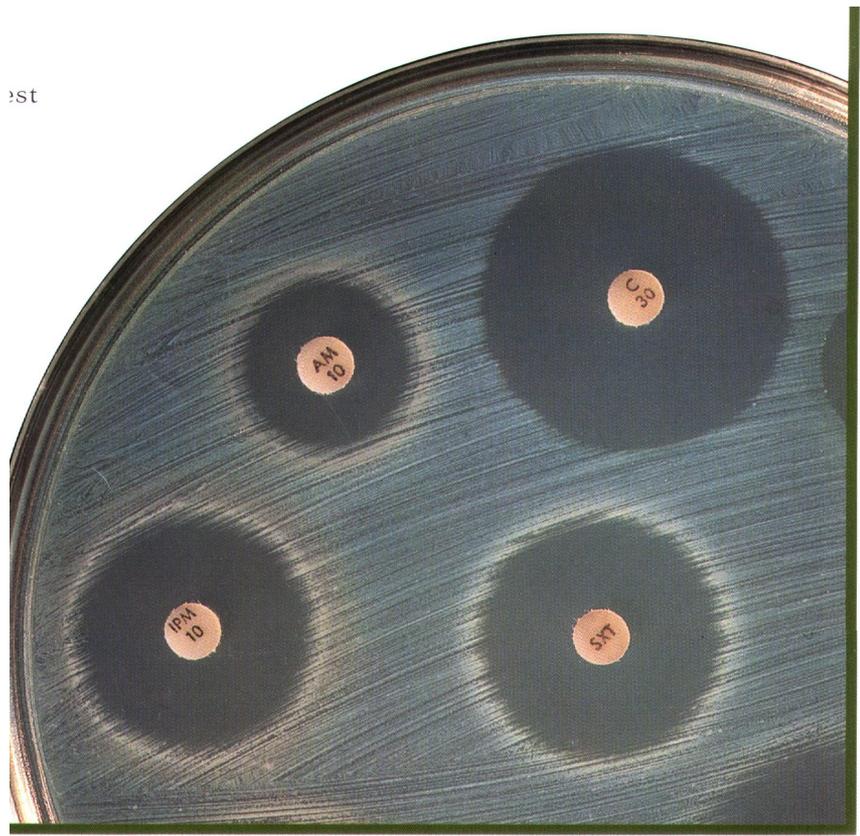
# Антимикробная активность антибиотиков

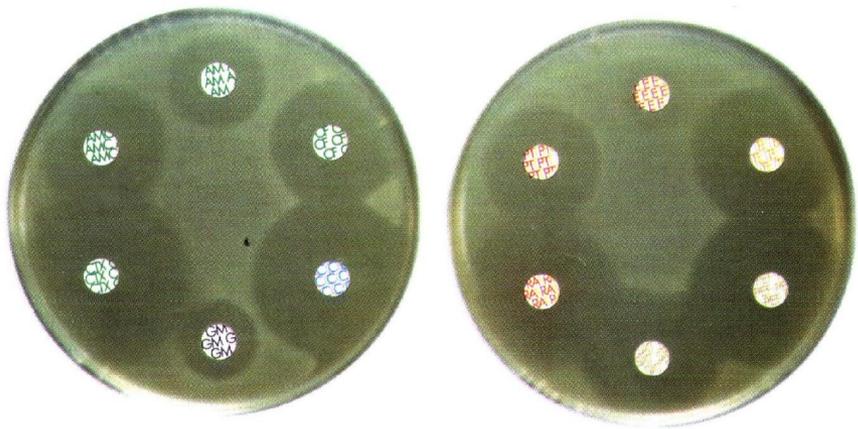
На антимикробную активность препаратов **in vivo** влияют:

- фармакодинамика препарата в организме (скорость всасывания, выведения, расщепления и т.д.)
- локализация микробов в организме (особенно внутриклеточная)

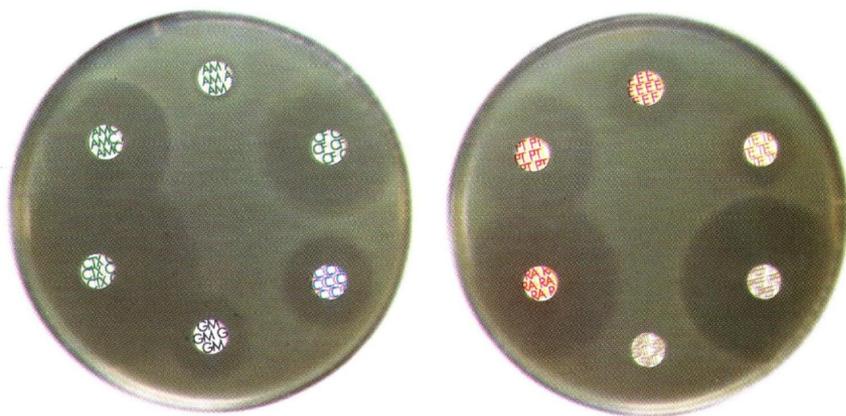


st





**Чувствительный** штамм *H. Influenzae*  
(ATCC 49766).  
• Умеренная чувствительность к эритромицину



*Штамм устойчивый к ампициллину — с  $\beta$ -лактамазной активностью.*

- Полирезистентность (ампициллин, хлорамфеникол, тетрациклин, триметоприм/сульфаметоксазол)  $\beta$ -лактамазпродуцирующий штамм



**Благодарю за внимание!**