

**Министерство сельского хозяйства Российской Федерации**  
**Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение**  
**высшего образования**  
**«Саратовский государственный аграрный университет**  
**имени Н.И. Вавилова»**

## **МИКРОБИОЛОГИЯ**

**Краткий курс лекций**  
**для студентов 2 курса**

Направления подготовки

**19.03.02 Продукты питания из**  
**растительного сырья**

Профиль подготовки

**Технология хлеба, кондитерских и макаронных изделий**

**Саратов 2016**

УДК 579  
ББК 28  
Щ61

Рецензенты:

Щ61	<p><b>Микробиология:</b> краткий курс лекций для бакалавров направления подготовки 19.03.02 Продукты питания из растительного сырья / Сост.: Е.А. Горельникова // ФГБОУ ВО «Саратовский ГАУ». – Саратов, 2016. – 100 с.</p> <p>Краткий курс лекций по дисциплине «Микробиология» составлен в соответствие с рабочей программой дисциплины и предназначен для магистров направления подготовки 10.03.02 Продукты питания из растительного сырья. Краткий курс лекций содержит теоретический материал по основным вопросам биологии и микробиологии, рассмотрены вопросы старения и метаболизма клетки, генетики, эволюции, экологии. Направлен на формирование у студентов знаний об основных закономерностях строения клетки и процессах, происходящих в ней, на применение этих знаний в практике.</p>
-----	---

УДК 579  
ББК 28

© Горельникова Е.А., 2016  
© ФГБОУ ВПО «Саратовский ГАУ», 2016

## **Введение**

Краткий курс лекций по дисциплине «Микробиология» предназначен для студентов обучающихся по направлению подготовки 19.03.02 Продукты питания из растительного сырья. Краткий курс лекций содержит теоретический материал по основным вопросам микробиологии, раскрывает основные закономерности строения и организации микробной клетки, знакомит с процессами, протекающими в ней. Курс нацелен на формирование у студентов профессиональных компетенций: «Способность определять и анализировать свойства сырья и полуфабрикатов, влияющие на оптимизацию технологического процесса и качество готовой продукции, ресурсосбережение, эффективность и надежность процессов производства»; «Способность использовать в практической деятельности специализированные знания фундаментальных разделов физики, химии, биохимии, математики для освоения физических, химических, биохимических, биотехнологических, микробиологических, теплофизических процессов, происходящих при производстве продуктов питания из растительного сырья». Направлен на формирование у студентов знаний об основных закономерностях строения микробной клетки и процессах, происходящих в ней, на применение этих знаний в практике.

## **ВВЕДЕНИЕ. ПРЕДМЕТ И ЗАДАЧИ МИКРОБИОЛОГИИ. ИСТОРИЧЕСКИЙ ОЧЕРК РАЗВИТИЯ НАУКИ.**

### **1.1 Предмет «Микробиологи» и её задачи.**

Микробиология (от греч. микрос – малый, биос – жизнь, логос – наука) – наука о малых существах, называемых микроорганизмами. Микробиология изучает морфологию, физиологию, биохимию, систематику, генетику и экологию микроорганизмов, их роль и значение в круговороте веществ, в экономике, в патологии человека, животных и растений.

К микроорганизмам относятся преимущественно одноклеточные организмы – бактерии, микроскопические грибы и водоросли, простейшие, а также организмы с неклеточной организацией – вирусы.

Как показывает само название, объекты, относимые к микроорганизмам, были выделены по признаку их малых размеров. Если принять за критерий границу видимости невооружённым глазом, равную 70-80 мкм (1 мм=1000 мкм), то все объекты, которые лежат за пределами этой границы, можно отнести к микроорганизмам. Величина самых крупных представителей микромира, лежащих на границе видимости невооружённым глазом, приблизительно 100 мкм (некоторые диатомовые водоросли, высшие протисты). На порядок ниже размеры одноклеточных зелёных водорослей и клеток дрожжей, ещё ниже размеры, характерные для бактерий: 0,5-3 мкм. Но есть среди бактерий свои «гиганты» и «карлики». Например, клетки нитчатой серобактерии *Beggiatoa* имеют диаметр до 50 мкм, длина клетки спирохеты может быть до 250 мкм. Самые мелкие из бактерий – бактерии, принадлежащие к группе микоплазм. Описаны микоплазмы с диаметром клеток 0,1-0,15 мкм.

Таким образом, микроорганизмы - это организмы, невидимые невооружённым глазом из-за их незначительных размеров. Этот критерий - единственный, который их объединяет. В остальном мир микроорганизмов еще более разнообразен, чем мир макроорганизмов.

### **1.2. Исторический очерк развития науки.**

Еще в 6 веке до н. э. Гипократ высказывал предположение, что причиной заразных болезней являются невидимые живые существа. Первым человеком, увидевшим микроорганизмы, был голландец Антони ван Левенгук, мануфактурщик из Дельфта. Он изобрёл способ, сделавший бактерии видимыми. Левенгук начал шлифовать линзы и создавать примитивные микроскопы уже с 1660 г. Микроскопы были очень простые, они имели только двояковыпуклые линзы и не превышали увеличения в 280 раз. Левенгук с интересом рассматривал все, что попадалось под руку: воду из пруда, зубной налет, настой перца, слюну, кровь и многое другое. Результаты своих наблюдений он начал посылать в Лондонское Королевское общество и 1676 год считают годом открытия микробиологии как науки. Открытие Левенгука привлекло к себе внимание других натуралистов и послужило началом морфологического (описательного) периода в истории микробиологии длившегося около двух столетий.

Следующий период в развитии микробиологии называется физиологический и человеком, который своими работами положил начало этому периоду, был выдающийся французский ученый Луи Пастер (1822—1895). Чтобы оценить гигантский научный труд Л. Пастера, достаточно привести надпись на доске, прибитой к дому, где помещалась его лаборатория. Надпись эта гласит: "Здесь была лаборатория Л. Пастера:

1857 г. — Брожения.

1860 г.—Самопроизвольное зарождение.

1865 г. — Болезни вина и пива.

1868 г. — Болезни шелковичных червей.

1881 г. — Зараза и вакцина.

1885 г. — Предохранение от бешенства".

Одним из основоположников медицинской микробиологии наряду с Пастером явился немецкий микробиолог Р. Кох (1843—1910), занимавшийся изучением возбудителей инфекционных заболеваний. Свои исследования Кох начал, еще будучи сельским врачом, с изучения сибирской язвы и в 1877 г. опубликовал работу, посвященную возбудителю этого заболевания — *Bacillus anthracis*. Вслед за этим внимание Р. Коха привлекла другая тяжелая и широко распространенная болезнь того времени—туберкулез. В 1882 г. Кох сообщил об открытии возбудителя туберкулеза *Mycobacterium tuberculosis*, который в его честь был назван "палочкой Коха". В 1905 г. Коху за исследование туберкулёза была присуждена Нобелевская премия. Кохом были открыты возбудители и других заболеваний – азиатской холеры, дифтерии, брюшного тифа, столбняка, гонореи.

Кох и его ученики обогатили микробиологию новыми методами исследований:

- разработали методы окраски микробиологии анилиновыми красителями;
- внесли усовершенствования в технику микроскопирования – иммерсионные объективы, что дал возможность выявлять плохо различимые формы;
- внесли в микробиологическую практику плотные питательные среды, на которых микроорганизмы способны формировать колонии;
- разработали методику выделения чистых культур бактерий из изолированных колоний на плотных питательных средах;
- разработали стеклянные ёмкости для культивирования микроорганизмов на плотных питательных средах (стажёр Коха – Петри), которые называются чашками Петри;
- внесли в микробиологическую практику дезинфекцию, как способ удаления микроорганизмов с поверхности.

Родоначальником русской микробиологии является Л. С. Ценковский (1822—1887). Объектом его исследований были микроскопические простейшие, водоросли, грибы. Л. С. Ценковский была предложена вакцина против сибирской язвы.

Основоположником медицинской микробиологии в России справедливо считают также И. И. Мечникова (1845—1916). В 1883 г. И. И. Мечников создал фагоцитарную теорию иммунитета, в основе которой лежит способность белых кровяных телец (фагоцитов) захватывать и разрушать посторонние тела, попавшие в организм. В 1909 г. за исследования по фагоцитозу И.И. Мечникову была присуждена Нобелевская премия в области иммунологии. Мечников И.И. является также основоположником учения о микробном антагонизме, послужившем основой для развития науки об антибиотикотерапии. Он показал, что молочнокислые бактерии подавляют гнилостные.

Большой вклад в развитие микробиологии внёс Д.И. Ивановский (1864-1920), который в 1892 г. открыл вирус, вызывающий мозаичную болезнь табака. Ивановский Д.И. считается основоположником новой ветви микробиологии – вирусологии.

Создание учения об экологии почвенных микроорганизмов связано с именем выдающегося русского исследователя С.Н. Виноградского (1856-1953). Для выделения в лабораторных условиях группы бактерий с определенными свойствами С.Н. Виноградский предложил создавать специфические (элективные) условия, дающие возможность преимущественного развития данной группы организмов. Принцип выделения микроорганизмов, основанный на методе накопительных культур, был успешно развит голландским микробиологом М. Бейеринком (1851-1931). М. Бейеринк обнаружил в почве еще один вид бактерий, способных к росту и азотфиксации в аэробных условиях, — *Azotobacter chroococcum*. Ему принадлежат работы по исследованию физиологии клубеньковых бактерий, изучению процесса денитрификации и сульфатредукции, работы по изучению ферментов разных групп микроорганизмов. С. Н. Виноградский и М. Бейеринк являются основоположниками экологического направления микробиологии, связанного с изучением роли микроорганизмов в природных условиях и участием их в круговороте веществ в природе.

С начала XX в. происходит дифференциация микробиологии. От нее отпочковываются новые научные дисциплины (вирусология, микология) со своими объектами исследования, выделяются направления, различающиеся задачами исследования (общая микробиология, техническая, сельскохозяйственная, медицинская, генетика микроорганизмов).

Общая микробиология изучает морфологию, физиологию, биохимию, генетику бактерий, вирусов, грибов и простейших, их роль в круговороте веществ и распространение в природе.

Техническая микробиология - изучает микробов участвующих в производстве антибиотиков, спиртов, витаминов, также разрабатывает методы защиты материалов от воздействия микроорганизмов.

Сельскохозяйственная микробиология - изучает роль и значение микробов в формировании структуры почвы, ее плодородия, минерализация и питание растений.

Ветеринарная микробиология - изучает возбудители заболеваний у животных, разрабатывает методы специфической профилактики и терапии инфекционных заболеваний.

Вирусология изучает неклеточные микробы - вирусы, их природу, химический состав, взаимоотношение с клеткой хозяина, механизмы внутриклеточного паразитизма и т.д.

Геологическая микробиология изучает связь между микроорганизмами и недрами земной коры.

Рудная микробиология изучает возможность применения микробов для выщелачивания из руд цветных и редких металлов (никель, кобальт).

Экологическая микробиология занимается борьбой с загрязнением окружающей среды при помощи микробов.

Водная микробиология изучает микроорганизмы морей, океанов и их участие в круговороте веществ и роль микроорганизмов в самоочищении воды.

Космическая микробиология изучает условия существования живых клеток в условиях невесомости.

#### **Вопросы для самоконтроля**

1. Что является предметом микробиологии, её целью и задачами.
2. Расскажите об описательном периоде в истории микробиологии.
3. Расскажите о физиологическом периоде в истории микробиологии.

#### **СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

##### *Основная*

1. **Ассонов, Н.Р.** Микробиология / Н.Р. Ассонов. – М.: Колос, 2011. – 352 с.
2. **Гусев, М.В.** Микробиология / М.В. Гусев, Л.А. Минаева. – М.: Академия, 2008. – 464 с.
3. **Емцев В.Т., Мишустин Е.Н.** Микробиология / В.Т. Емцев, Е.Н. Мишустин.– М.: Дрофа, 2005. – 446 с.

##### *Дополнительная*

1. **Громов, Б.В.** Строение бактерий / Б.В. Громов.– Л.: Изд-во ЛГУ, 1985. – 189 с.
2. **Готшлак, Г.** Метаболизм бактерий / Г. Готшлак. – М.: Мир, 1982. – 310 с.
3. **Шлегель, Г.** Общая микробиология / Г. Шлегель.– М.: Мир, 1987, – 568 с.
4. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии / А.А. Воробьев, [и др.]. – М.: Мастерство; Высшая школа, 2001. – 224 с.

**КЛАССИФИКАЦИЯ И СИСТЕМАТИКА МИКРООРГАНИЗМОВ.****2.1. Классификация и систематика микроорганизмов.**

Систематика – наука о биоразнообразии живых существ. Задача – описание всех существующих и вымерших объектов живой природы, а также их классификация по таксонам различного ранга. Классификация – система совокупности субъектов, объединённых в таксоны по сходству признаков и общности происхождения. Задача – создание системы живых существ.

Таксономия – раздел систематики, посвящённый принципам, методам, правилам классификации. Задача – создание рационального учения о таксономических категориях (таксонах) и их соподчинённости (иерархии), позволяющей построить естественную классификацию микроорганизмов.

Таксономическая категория – ранг – уровень в иерархической классификации: вид, род, семейство. Таксон – конкретная, достаточно обособленная группа микроорганизмов, которой присвоена определённая категория; группа организмов связанных той или иной степенью родства и достаточно обособленная.

Номенклатура – система научных названий, прилагаемых к таксономическим единицам (таксонам). Это правило назвать микроорганизмы или любые другие живые организмы.

Начиная с Аристотеля (384—322 до н. э.), биологи делили живой мир на два царства — растений и животных. Во второй половине XIX в. немецкий биолог Геккель (1834—1919) приходит к заключению, что микроорганизмы настолько существенно отличаются как от царства животных, так и от царства растений, что не укладываются ни в одно из этих подразделений. Геккель предложил выделить все микроорганизмы (простейшие, водоросли, грибы, бактерии), в отдельное царство Protista (протисты, первосущества).

С конца XIX века протисты подразделяются на высшие протисты и низшие протисты. К высшим протистам стали относить микроскопических животных (простейших), микроскопические водоросли (кроме сине-зеленых) и микроскопические грибы (плесени, дрожжи), к низшим — все бактерии и сине-зеленые водоросли (последние чаще называют теперь цианобактериями). Деление на высшие и низшие протисты происходило в соответствии с двумя выявленными типами клеточной организации — эукариотной и прокариотной. Высшие протисты имеют эукариотное строение клеток, т. е. являются эукариотами, низшие — прокариотное.

С открытием вирусов в 1892 г. Д. И. Ивановским мир узнал о неклеточных формах жизни. В систематике живых существ появились империи клеточных и неклеточных организмов.

К. Леман и Р. Нейман в 1896 г. положили начало созданию научно обоснованной классификации микробов, согласно которой все микроорганизмы были подразделены на три семейства: *Coccaceae*, *Bacteriacaceae*, *Spirillaceae*. В последующем эта классификация претерпела существенные изменения. В 1923 г. Д. Берджи выпустил первый международный определитель бактерий, последующие издания определителя под названием «Bergey's Manual of determinative bacteriology» были подготовлены Международным комитетом по систематике бактерий.

В соответствии с новым кодексом номенклатуры, который действует с 1 января 1980 г., имеются следующие классификационные категории царства Procariote: Отдел-Класс-Порядок-Семейство-Род-Вид.

Вид – совокупность микроорганизмов имеющих общее происхождение, сходный генотип, и максимально близкие фенотипические признаки и свойства. Серовар – подвидовая единица – отличия по антигенным свойствам, биовар – подвидовая единица – отличия по биохимическим свойствам., фаговар – по отношению к фагу, патовар – отличия по патогенности. Штамм – культура одного того же вида, выделенная из разных

объектов и отличающаяся незначительными изменениями. Культура – микроорганизмы, выращенные на плотной или жидкой среде в условиях лаборатории. Чистая культура – микроорганизмы, полученные из особи одного вида. Смешанная культура – микроорганизмы, полученные из разных видов. Клон – культура, полученная из одной клетки.

После подробного изучения микроорганизму дают научное название, которое должно быть выражено двумя латинскими словами как этого требует бинарная номенклатура, предложенная в XVIII в. К. Линнем. Первое слово – название рода, пишется с прописной буквы, второе - вида, пишется со строчной.

В современном виде систематическое положение микроорганизмов выглядит следующим образом (Берги, 1984):

Импери:	Неклеточные	Клеточные
	↓	⇌    ⇌
Царства:	Вирусов	Прокариоты    Эукариоты
.....	1.Отдел Gracilicutes	Отдел Fungi (Грибы)
	(грамположительные зубактерии)	Царство растений <i>Planta</i>
	2.Отдел Firmicutes	(водоросли ( <i>Algae</i> ))
	(грамотрицательные зубактерии)	
	3.Отдел Tenericutes	
	(зубактерии лишённые клеточной стенки)	
	4.Отдел Mendosicutes	
	(археобактерии)	

**2.2. К I отделу прокариот *Gracilicutes*** относятся прокариоты, имеющие граммотрицательный тип клеточной стенки, кокки, палочки или нити. Они могут быть подвижными или неподвижными. Эндоспор не образуют. Размножаются бинарным делением или почкованием. В этот отдел входят фототрофы и нефототрофы (литотрофы и хемотрофы), аэробы и анаэробы и факультативные анаэробы. Некоторые являются внутриклеточными паразитами.

Отдел включает 3 класса.

I Класс *Scorobacteria* содержит следующие группы. Группа 1 Спирохеты – это спирально завитые одноклеточные бактерии. Группа 2 Аэробные спиральные и вибрионоподобные бактерии (сем. *Spirillaceae*). Группа 3. Аэробные граммотрицательные палочки и кокки. В группе 7 семейств, 3 из которых имеют большое значение в плодородии почв. Группа 4. Факультативно-анаэробные граммотрицательные палочки. Включает 2 семейства *Enterobacteriaceae* и *Vibrionaceae*, многие представители которых относятся к возбудителям инфекционных болезней человека и животных. Группа 5. Анаэробные граммотрицательные палочки, изогнутые или спиральные палочки. Это семейство *Bacteroidaceae*, обитают в кишечнике человека и животных и могут вызывать заболевания желудочно-кишечного тракта. Группа 6 Грамотрицательные хемолиторофные бактерии, получают энергию за счёт окисления аммиака или нитрита, серосодержащих соединений. Группа 6 – скользящие бактерии. Это миксобактерии, образующие плодовые тела. Группа 7 – хламидобактерии, имеющие чехлы (слизистые капсулы). Группа 9. – почкующиеся или стебельковые бактерии, например *Gallionella*. Группа 10 – рикетсии и хламидии. Это внутриклеточные паразиты, размножающиеся только внутри клеток хозяина.

II Класс *Anoxyphotobacteria*. Это организмы с безкислородным типом фотосинтеза. Сюда относятся пурпурные и зелёные бактерии.

III Класс *Oxyphotobacteria*. У них фотосинтез сопровождается выделением молекулярного кислорода. Сюда относят цианобактерии или сине-зелёные водоросли. Это граммотрицательные прокариотные организмы, имеющие внутрисплатматические

мембраны- тилакоиды с фотопигментами: хлорофиллом а. Они одноклеточные, колониальные и многоклеточные.

**2.3 Отдел II Firmicutes** включает прокариот с грамположительной клеточной стенкой. Кокки, палочки и нити. Некоторые ветвятся, подвижные и неподвижные. Размножаются бинарным делением. Нефотосинтезирующие организмы. Аэробы, анаэробы и факультативные анаэробы. Неспорообразующие и спорообразующие.

I Класс *Firmidacteria*. Группа 1 - Грамположительные кокки. 3 семейства: *Micrococcaceae*, *Streptococcaceae*, *Peptococcaceae*. Группа 2 – палочки и кокки, образующие эндоспоры. Сюда входят бациллы, клостридии. Группа 3 – грамположительные бактерии, не образующие эндоспор, семейство *Lactobacillaceae*, сбраживают углеводы с образованием молочной кислоты, распространены в почвах, на растениях, в желудочно-кишечном тракте животных, молочных продуктах. Вызывают молочнокислое брожение.

II Класс *Tallobacteria* Этоаткиномицеты и родственные организмы. Группа 1 – коринеформные бактерии – палочки с утолщениями на концах, напоминающие булаву. Группа 2 Пропионибактерии – широко распространены в молочных продуктах, на коже человека и ЖКТ. Группа 3 Актиномицеты. Это грамположительные бактерии, обладающие способностью образовывать ветвящиеся гифы. Обитают в почве, многие выделяют антибиотические вещества.

**2.4. Отдел III Tenericutes** включает грамотрицательных прокариот, не имеющих клеточной стенки и не синтезирующих пептидогликан. Это микоплазмы. Они являются сапрофитами, паразитами и возбудителями болезней животных и человека.

**2.5. Отдел IV Mendosicutes** включает прокариот, обладающие несовершенной клеточной стенкой, которая не содержит пептидогликана. Имеют форму кокков, палочек и спиралей, а также пирамид, квадрата. Некоторые окрашиваются грамположительно, некоторые – грамотрицательно, эндоспор нет, многие подвижные. В отдел входит класс *Archeobacteria*. они отличаются от остальных прокариот составом рРНК и тРНК, мембранных липидов, клеточных стенок. Некоторые способны развиваться при 100 °С. Это метанообразующие, сероокисляющие, серовосстанавливающие, галобактерии.

#### Вопросы для самоконтроля

1. Что такое систематика, таксономия и номенклатура?
2. Какие отделы прокариот входят в I отдел прокариот *Gracilicutes*?
3. Какие отделы прокариот входят в II отдел прокариот *Firmicutes*?
4. Какие микроорганизмы входят в III отдел прокариот *Tenericutes*?
5. Какие микроорганизмы входят в IV отдел прокариот *Mendosicutes*?

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

##### Основная

1. **Ассонов, Н.Р.** Микробиология / Н.Р. Ассонов. – М.: Колос, 2011. – 352 с.
2. **Гусев, М.В.** Микробиология / М.В. Гусев, Л.А. Минаева. – М.: Академия, 2008. – 464 с.
3. **Емцев, В.Т., Мишустин, Е.Н.** Микробиология / В.Т. Емцев, Е.Н. Мишустин. – М.: Дрофа, 2005. – 446 с.

##### Дополнительная

1. **Громов, Б.В.** Строение бактерий / Б.В. Громов. – Л.: Изд-во ЛГУ, 1985. – 189 с.
2. **Шлегель, Г.** Общая микробиология / Г. Шлегель. – М.: Мир, 1987, – 568 с.
3. Краткий определитель Берги. – М.: Мир, 1980. – 496 с.
4. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии / А.А. Воробьев, [и др.]. – М.: Мастерство; Высшая школа, 2001. – 224 с.

## **ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРООРГАНИЗМОВ. ВИРУСОЛОГИЯ.**

### **3.1. Общая характеристика основных групп микроорганизмов.**

К микроорганизмам относятся преимущественно одноклеточные организмы – бактерии, микроскопические грибы и водоросли, простейшие, а также организмы с неклеточной организацией – вирусы.

Микробный мир, включающий вироиды и вирусы, бактерии, грибы, водоросли, лишайники и простейшие характеризуются своими особенностями.

Вирусы – ультрамикроскопические, облигатные внутриклеточные паразиты, способные размножаться только в клетках живых организмов.

Вирусы – наименьшие организованные формы жизни в виде частиц, не обладающих собственным обменом веществ и стоящие на грани между живой и неживой природой. Это безусловные или облигатные паразиты, содержащие какой-либо один тип нуклеиновой кислоты – дезоксирибонуклеиновую (ДНК) или рибонуклеиновую (РНК).

Бактерии, грибы, водоросли, лишайники и простейшие морфологически отличаются друг от друга, причём простейшие организмы являются микроскопическими животными существами.

Накопленные материалы о каждой группе микробов настолько обширны, что это послужило основой для выделения самостоятельных научных дисциплин: бактериологии, альгологии, лишенологии и протистологии.

Большая численность бактерий и огромная роль их в природе и жизни человека вполне оправдывает существование особой науки бактериологии, изучающей эти микроорганизмы. В свою очередь бактериология является составной частью микробиологии. Бактерии выделяют в отдельное Царство – царство прокариот и их строение будет рассмотрено на следующей лекции.

В сферу микробиологии входят эукариотные микроорганизмы, например грибы, образующие мицелий, который может быть как одноклеточным, так и многоклеточным. Детально микроскопические грибы изучает наука микология, а их строение будет рассмотрено в следующей лекции.

Микроскопические размеры имеют многие простейшие животные (протоза) и зелёные растения, в основном водоросли. Нередко их особенности также рассматриваются в курсе микробиологии, хотя обычно группа простейших животных составляет содержание протозоологии, а микроскопические водоросли – альгологии.

Водоросли (от лат. *alga* – морская трава) – преимущественно автотрофные фотосинтезирующие талломные организмы, содержащие разной формы специальные органеллы – хроматофоры (хлоропласты) и живущие, как правило, в воде и почве.

Лишайники – симбионты, обладающие специфическими морфологическими признаками и строением. Они включают грибы (фикомицеты, аскомицеты и базидиомицеты) и цианобактерии (носток, хлорококк) или зелёные водоросли (хроококк, хлорелла, реже – кладофора). Лишайники изучает наука – лишенология.

### **3.2. Царство Вирусов.**

Вирусы – ультрамикроскопические, облигатные внутриклеточные паразиты, способные размножаться только в клетках живых организмов.

Вирусы были открыты в 1892 г. Д.И. Ивановским при изучении причин гибели табака от мозаичной болезни, выражающейся в появлении пятен на листьях. Д.И. Ивановский обнаружил, что здоровое растение можно заразить соком больного даже после пропускания этого сока через бактериальные фильтры, задерживающие бактерии. Этот организм получил название «фильтрующий вирус», а затем просто «вирус».

В 1898 г. открыт вирус ящура у животных (Лёффлер и Фрош), в 1915 г. Ф. Туортом и в 1917 г. Д'Эррелем независимо друг от друга был открыт вирус бактерий – бактериофаг.

Вирусы обладают следующими характерными особенностями:

- не задерживаются бактериальными фильтрами;
- не имеют клеточного строения;
- не способны к росту и бинарному делению;
- не имеют собственных метаболических систем;
- содержат нуклеиновые кислоты только одного типа – ДНК или РНК;
- для их воспроизводства нужна только нуклеиновая кислота;
- используют рибосомы клетки-хозяина для образования собственных белков;
- не размножаются на искусственных питательных средах и могут существовать только в организме восприимчивого хозяина.

Вирусы – наименьшие организованные формы жизни в виде частиц, не обладающих собственным обменом веществ и стоящие на грани между живой и неживой природой.

*Т.О. вирусы – это автономные генетические ультрамикроскопических размеров организмы, обладающие одним типом нуклеиновых кислот, лишены собственных систем синтеза белка и мобилизации энергии, способные размножаться внутри живых клеток.* Это безусловные или облигатные паразиты, содержащие какой-либо один тип нуклеиновой кислоты – дезоксирибонуклеиновую (ДНК) или рибонуклеиновую (РНК). Вирусы, вызывающие заболевания и обитающие в организме животных, растений и человека относятся преимущественно к РНК-типу.

Вирусы, вызывающие заболевания и обитающие в организме животных, растений и человека относятся преимущественно к РНК-типу. Инфекционные частицы (единицы) вирусов называют вирионами. Каждый вирион имеет капсомеры, представляющие собой морфологические единицы, состоящие из одной или нескольких белковых молекул. Капсомеры уложенные в определённом порядке образуют капсид, который вместе с нуклеиновой кислотой образует нуклеокапсид. По характеру укладки капсидов судят о типах симметрии: спиральном (у вирусов гриппа, бешенства), кубическом (у вирусов герпеса, ветряной оспы, полиомиелита), смешанном.

К вирусам относят вириды и бактериофаги.

Вириды – инфекционные агенты, вызывающие заболевания людей, животных и растений. Они представляют собой нуклеиновые кислоты, состоящие из коротких одонитевых циркулярных молекул рибонуклеиновой кислоты, лишённых капсида, с молекулярной массой 100-120 кДа. Бактериофаги – вирусы бактерий содержат ДНК, однако имеются фаги, содержащие РНК. Вирусы цианобактерий называют цианофагами, актиномицетов – актинофагами. Все бактериофаги классифицируют по бактериям хозяевам и типу содержащейся нуклеиновой кислоты. Структурно в них выделяют головку, содержащую нуклеиновую кислоту и хвостик. Хвостик имеет воротничок, чехол, стержень, базальную пластинку с шестью шипами и шестью фибриллами. При адсорбции фагов на чувствительных клетках происходит инъекция нуклеиновой кислоты, после чего клетка может направленно синтезировать фаговую нуклеиновую кислоту.

Изучение вирусов в электронном микроскопе показало, что они имеют разнообразную форму: 1) сферическую (вирусы гриппа, паротита), 2) палочковидную (вирус табачной мозаики), 3) нитевидную (вирусы растений и бактерий), 4) булавовидную, характеризующуюся наличием головки и отростка (вирусы бактерий актиномицетов).

Инфекционные частицы (единицы) вирусов называют вирионами. Каждый вирион имеет капсомеры, представляющие собой морфологические единицы, состоящие из одной или нескольких белковых молекул. Капсомеры уложенные в определённом порядке образуют капсид, который вместе с нуклеиновой кислотой образует нуклеокапсид. По характеру укладки капсидов судят о типах симметрии: спиральном (у вирусов гриппа, бешенства, вирус табачной мозаики), кубическом (у вирусов герпеса, ветряной оспы, полиомиелита), смешанном (вирус лейкозов, сарком, некоторые фаги).

Размеры вирусов колеблются в широком диапазоне от 20 до 350 нм. Их определяют 1) фильтрованием через фильтры с известной величиной пор; 2) ультрацентрифугированием; 3) диффузией; 4) фотографированием в электронном микроскопе.

К вирусам относят вирионы и бактериофаги.

Вирионы – инфекционные агенты, вызывающие заболевания людей, животных и растений. Они представляют собой нуклеиновые кислоты, состоящие из коротких односторонних циркулярных молекул рибонуклеиновой кислоты, лишённых капсида, с молекулярной массой 100-120 кДа.

Бактериофаги – вирусы бактерий содержат ДНК, однако имеются фаги, содержащие РНК. Вирусы цианобактерий называют цианофагами, актиномицетов – актинофагами. Все бактериофаги классифицируют по бактериям хозяевам и типу содержащейся нуклеиновой кислоты. Для многих бактериофагов характерен сложный тип симметрии. Структурно в них выделяют головку, содержащую нуклеиновую кислоту и хвостик. Длина головки достигает 60 -100 нм, отростка – 100 – 200 нм. Хвостик имеет воротничок, чехол, стержень, базальную пластинку с шестью шипами и шестью фибриллами. При адсорбции фагов на чувствительных клетках происходит инъекция нуклеиновой кислоты. После нападения фага бактерия перестаёт делиться и двигаться. Метаболизм перестраивается под влиянием фага таким образом, что она производит не вещества собственной клетки, а бактериофага и клетка может направленно синтезировать фаговую нуклеиновую кислоту. Клеточная стенка бактерии растворяется (лизирована) и из неё выходят зрелые бактериофаги. Растворять (лизировать) бактерии способен только вирулентный фаг. Однако, бактериальная клетка может инфицироваться недостаточно активным фагом и он может в ней существовать, не вызывая лизиса и при размножении бактерий переходить в дочерние клетки. Бактериофаги такого характера называются умеренными, а бактерии-переносчики этих фагов – лизогенными. При определённых условиях лизогенные культуры бактерий могут быть лизированы находящимся в них фагом. Фаги специфичны – каждый может поражать или один или группу близких видов микроорганизмов.

### **Вопросы для самоконтроля**

1. Какие группы микроорганизмов являются объектом изучения микробиологии.
  2. Охарактеризуйте лишайники.
  3. Охарактеризуйте водоросли, изучаемые микробиологией.
  4. Охарактеризуйте простейшие, изучаемые микробиологией.
2. Охарактеризуйте вирусы.

### *Основная*

1. **Ассонов, Н.Р.** Микробиология / Н.Р. Ассонов. – М.: Колос, 2011. – 352 с.
2. **Гусев, М.В.** Микробиология / М.В. Гусев, Л.А. Минаева. – М.: Академия, 2008. – 464 с.
3. **Емцев, В.Т., Мишустин, Е.Н.** Микробиология / В.Т. Емцев, Е.Н. Мишустин. – М.: Дрофа, 2005. – 446 с.

### *Дополнительная*

1. **Громов, Б.В.** Строение бактерий / Б.В. Громов. – Л.: Изд-во ЛГУ, 1985. – 189 с.
2. **Шлегель, Г.** Общая микробиология / Г. Шлегель. – М.: Мир, 1987, – 568 с.
3. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии / А.А. Воробьёв, [и др.]. – М.: Мастерство; Высшая школа, 2001. – 224 с.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРООРГАНИЗМОВ. МИКОЛОГИЯ. ГРИБЫ И АКТИНОМИЦЕТЫ.

Микроскопические грибы изучает наука микология

### 4.1. Морфологии грибов

Грибы относят к эукариотам. С растениями их сближает наличие ядер, клеточных стенок и вакуолей, но у них нет хлорофилла, поэтому они являются гетеротрофами (растут в аэробных условиях и получают энергию путем окисления органических веществ). Грибы могут быть сапрофитами или паразитами.

Вегетативное тело гриба состоит из разветвленных нитей - гиф толщиной около 5 мкм - мицелия, или грибницы. Мицелий может быть субстратным или погруженным – развивается в толще субстрата, и поверхностным или воздушным – развивается на поверхности среды.

У высших грибов гифы разделены поперечными перегородками-септами на клетки, у низших мицелий одноклеточный. Иногда мицелий образует ризоиды, выросты, при помощи которых гриб крепится к субстрату и получает питательные вещества.

### 4.2 Размножения грибов

Размножение грибов происходит половым и бесполом путем.

Половое размножение начинается с образования в специальных клетках-гаметангиях половых клеток или гамет. Мужские гаметангии – антеридии, женские – оогонии. После слияния гамет происходит образование спор. Бесполое размножение осуществляется:

1. Фрагментацией мицелия;
2. Почкованием (реже делением);
3. Спорами.

При фрагментации происходит разлом гиф на отдельные клетки – артросторы или оидии. У некоторых грибов такие клетки окружаются толстой стенкой, в этом случае их называют хламидиоспорами.

Почкование или деление является характерным видом бесполого размножения дрожжей.

Наиболее широко распространено бесполое размножение спорами. Существует 2 способа образования спор бесполом путем. Первый способ заключается в следующем: споры отшнуровываются на концах гиф – это конидиоспоры или экзоспоры. Конидии, обычно шарообразные, образуются на гифах-конидиеносцах. Конидии могут быть одиночными – по одной на каждом ответвлении конидиеносца и множественными, если образуется несколько конидий. Конидиеносцы бывают простые и разветвленные. Разветвленные имеют на конце ветвления верхушечные клетки, называемые стеригмами. Второй способ – споры образуются в спорангиях – это спорангиоспоры или эндоспоры. Они образуются в специальных спорангиях с оболочкой. Спорангии находятся на гифах-спорангиеносцах. При разрыве спорангия эндоспоры освобождаются и, попав на среду, прорастают.

### 4.3 Классификация грибов

К царству *Mycota* или *Fungi* (Грибы) относят 2 отдела: отдел *Muchomycota* (слизевые грибы) и отдел *Eumycota* (истинные грибы). Истинные грибы распределены на 6 классов: 1) класс *Chytridiomycetes* (хитридиомицеты), 2) класс *Oomycetes* (оомицеты), 3) класс *Zygomycetes* (зигомицеты), 4) класс *Ascomycetes* (аскомицеты), 5) класс *Basidiomycetes* (базидиомицеты), 6) класс *Deuteromycetes*

(дейтеромицеты). Классы хитридиомицеты, оомицеты и зигомицеты относятся к низшим грибам (фикомицетам), классы аскомицеты, базидиомицеты и дейтеромицеты - к высшим грибам (эумицетам).

Фикомицеты, или низшие грибы. Имеют хорошо развитый ветвистый одноклеточный мицелий. Размножаются половым путем и бесполом, при помощи спор. Представитель класса *Zygomycetes* - мукор (*Mucor mucedo*) развивается в виде войлочного белого или серого налета на продуктах и навозе. Мицелий мукоровых грибов пронизывает субстрат и частично стелется по его поверхности. Вверх от грибницы отходят гифы - спорангиеносцы, вздувающиеся на концах. Вздутия представляют собой спорангии, они отделяются от спорангиеносцев перегородкой. В спорангиях бесполом путем образуются многочисленные спорангиоспоры. Перегородка куполообразна, поэтому верх спорангиеносца - находится внутри спорангия.

Класс Аскомицеты, или сумчатые грибы. Высшие грибы с многоклеточным или членистым мицелием, образуют споры в "сумках" - асках. Аскомицеты подразделяют на: 1) эуаскомицеты (истинные аскомицеты), у которых сумки со спорами формируются в плодовых телах - плотных образованиях мицелия. Бесполом путем размножаются спорами-конидиями; 2) гемиаскомицеты, не образующие плодовых тел.

К эуаскомицетам относят роды *Penicillium* и *Aspergillus*.

Пенициллы и аспергиллы имеют хорошо развитый многоклеточный мицелий. Размножаются преимущественно конидиальным спороношением. В виде налетов голубого, зеленого цвета встречаются на растительных продуктах, отсыревших изделиях из кожи, обоях.

Грибы рода *Penicillium* называют кистевиками, так как конидии у них формируются на концах разветвленных конидиеносцев, напоминающих кисть.

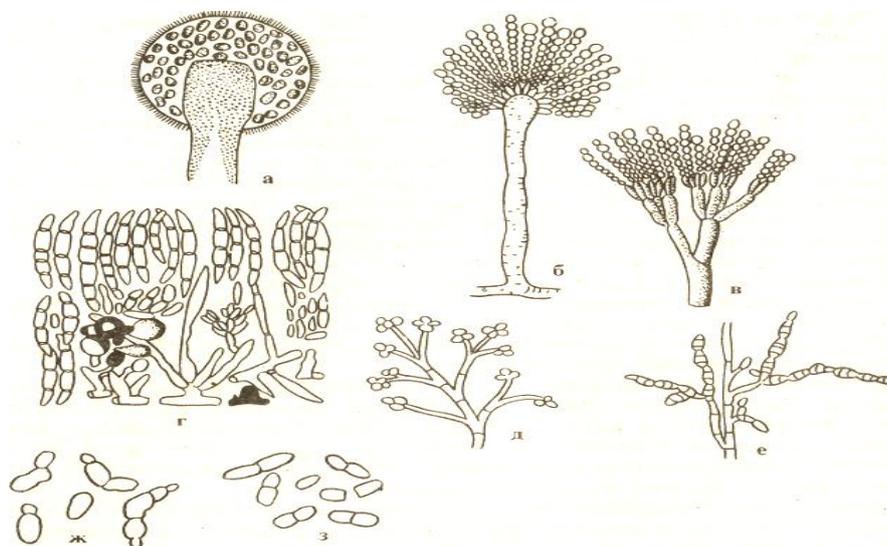


Рис. 1. Микроскопические грибы родов:  
а - *Mucor*, б - *Aspergillus*, в - *Penicillium*; г - *Fusarium*; д - *Trichoderma*; е - *Alternaria*; ж - *Saccharomyces*; з - *Schizosaccharomyces*

Для грибов рода *Aspergillus*, или леечная плесень, обычны одноклеточные конидиеносцы шаровидно, булавовидно или грушевидно вздутые. На них располагаются параллельно друг другу короткие кеглеобразные стеригмы, каждая из которых отшнуровывает цепочки конидий. Представитель - *Aspergillus niger*.

У гемиаскомицетов плодовые тела отсутствуют. К гемиаскомицетам относят дрожжи.

Это округлые клетки диаметром 8 - 15 мкм. Форма клеток эллипсоидная, грушевидная, округлая, цилиндрическая. В мелкозернистом содержимом живых дрожжей хорошо заметны крупные прозрачные вакуоли, занимающие иногда центральное положение. Размножаются в основном вегетативным способом – почкованием и делением. К почкующимся дрожжам относят дрожжи рода сахаромицеты (*Saccharomyces*), к делящимся - виды рода шизосахаромицеты (*Schizosaccharomyces*).

Для дрожжей также свойственно размножение половым путем с образованием спор. При половом процессе слияние вегетативных клеток дрожжей ведет к образованию клеток-сумок (асков) со спорами.

Наиболее окультурены дрожжи пивные или пекарские – *Saccharomyces cerevisiae*, осуществляющие спиртовое брожение с выделением углекислого газа. Форма их разнообразна, размножаются они, как и все сахаромицеты, почкованием и аскоспорами. При почковании на материнской клетке возникает маленькая выпуклость – "почка" – это дочерняя клетка, в которую переходит одно ядро, клетка увеличивается в размерах и отделяется. Если условия для такого размножения благоприятны, процесс идет очень быстро. Иногда клетки после почкования не успевают разъединиться и возникает псевдомицелий (ложный мицелий). В пекарских дрожжах обычно присутствуют две расы: одна представлена округло-эллипсоидными клетками, быстро разъединяющимися при почковании; другая – удлиненно-цилиндрическими, образующими при почковании ветвистые кустики (псевдомицелий).

Класс Дейтеромицеты, или несовершенные грибы. Имеют многоклеточный мицелий, но у них нет полового процесса. Размножаются бесполым путем при помощи конидий или вегетативно участками гиф. В природе широко распространены представители родов *Fusarium*, *Trichoderma*, *Alternaria*. Встречаются на растительных остатках, плодах, семенах и в почве.

Среди грибов рода *Fusarium* есть как сапрофиты, живущие в почве и на растительных остатках, так и паразиты, вызывающие заболевания многих видов растений (увядание, гнили корней, стеблей, плодов, полегание семян древесных и кустарниковых пород, болезни семян) и животных. Колонии отдельных видов фузариума на питательных средах (сусло-агар) разнообразны по структуре: они могут быть рыхлыми; ватообразными, пышными воздушными или плотными пленчатыми. Колонии бывают белые или различных тонов розового или желтого цвета. Нередко питательная среда тоже окрашивается в разные цвета и оттенки от розового до коричневого. Размножаются конидиоспорами. Конидиеносцы разветвленные, а сами конидии, так называемые макроконидии, очень своеобразны. Они заострены на концах, продолговатые согнутые или серповидные, с несколькими перегородками. У многих видов фузариума образуются еще овальные, мелкие, бесцветные, чаще одноклеточные микроконидии.

#### 4.5 Актиномицеты

**Актиномицеты** – бактерии, имеющие способность к формированию на некоторых стадиях развития ветвящегося мицелия (некоторые исследователи, подчёркивая бактериальную природу актиномицетов, называют их аналог грибного мицелия тонкими нитями) диаметром 0,4—1,5 мкм, которая проявляется у них в оптимальных для существования условиях. Имеют кислотоустойчивый тип клеточной стенки, которая окрашивается по Граму как грамположительная, однако по структуре ближе к грамотрицательным. Характеризуются высоким (60—75 %) содержанием ГЦ пар в ДНК. Наиболее распространены в почве: в ней обнаруживаются представители почти всех родов актиномицетов. Актиномицеты обычно составляют четверть бактерий,

вырастающих на традиционных средах при посевах их разведённых почвенных суспензий и 5—15 % прокариотной биомассы, определяемой с помощью люминесцентной микроскопии. Их экологическая роль заключается чаще всего в разложении сложных устойчивых субстратов; предположительно они участвуют в синтезе и разложении гумусовых веществ. Могут выступать симбионтами беспозвоночных и высших растений.

Актиномицеты доминируют на поздних стадиях микробной сукцессии, когда создаются условия для использования труднодоступных субстратов. Активация актиномицетной микрофлоры происходит при внесении в почву крахмала, хитина, нефтепродуктов и т. д.. В то же время из-за медленного роста актиномицеты не способны конкурировать с немикелиальными бактериями за легкодоступные вещества. Возможно, что вторичные метаболиты (в особенности, меланоидные пигменты) играют какую-то роль в образовании гумуса. Актиномицеты (рода *Streptomyces*, *Streptosporangium*, *Micromonospora*, *Actinomadura*) являются постоянными обитателями кишечника дождевых червей, термитов и многих других беспозвоночных. Разрушая целлюлозу и другие биополимеры, они являются их симбионтами. Представители рода *Frankia* способны к азотфиксации и образованию клубеньков у небобовых растений (облепиха, ольха и др.). Есть патогенные формы, вызывающие актиномикоз. В организме человека обитают в ротовой полости, в кишечнике, в дыхательных путях, на коже, в зубном налете, в кариозных зубах, на миндалинах.

Большинство актиномицетов — аэробы, факультативные анаэробы присутствуют лишь среди актиномицетов с непродолжительной мицелиальной стадией. Здесь усматривается некоторая параллель с грибами, среди которых лишь немикелиальные дрожжи также способны жить в анаэробных условиях. Предполагается что менее эффективный анаэробный тип метаболизма успешен при большей относительной поверхности клеток, которая достигается фрагментацией мицелия.

Чаще всего актиномицеты нейтрофилы, однако некоторые роды ацидофильны или алкалофильны. Характерным свойством актиномицетов является ацидотолерантность, благодаря чему их доля в микробном комплексе лесных почв относительно высока. Отмечено что на кислой среде продлевается вегетативная стадия, на щелочной, напротив, ускоряется спорообразование.

Вопросы для самоконтроля:

1. Расскажите о строении грибов.
2. Расскажите о строении актиномицет.
3. Расскажите о классификации грибов.
4. Расскажите о размножении грибов.
- 5.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

### Основная

1. Ассонов, Н.Р. Микробиология / Н.Р. Ассонов. – М.: Колос, 2011. – 352 с.
2. Гусев, М.В. Микробиология / М.В. Гусев, Л.А. Минаева. – М.: Академия, 2008. – 464 с.
3. Емцев, В.Т., Мишустин, Е.Н. Микробиология / В.Т. Емцев, Е.Н. Мишустин. – М.: Дрофа, 2005. – 446 с.
4. Ботаника: Курс альгологии и микологии. Под ред. Ю. Т. Дьякова. — М.: Издательство МГУ, 2007.

### Дополнительная

1. Громов, Б.В. Строение бактерий / Б.В. Громов. – Л.: Изд-во ЛГУ, 1985. – 189 с.
2. Шлегель, Г. Общая микробиология / Г. Шлегель. – М.: Мир, 1987, – 568 с.
3. Краткий определитель Берги. – М.: Мир, 1980. – 496 с.
4. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии / А.А. Воробьёв, [и др.]. – М.: Мастерство; Высшая школа, 2001. – 224 с.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРООРГАНИЗМОВ. АЛЬГОЛОГИЯ И ЛИХЕНОЛОГИЯ.

**5.1 Альгология** (от лат. *alga* — морская трава, водоросль и греч. логос — учение) — раздел биологии, изучающий водоросли.

Ранее все водоросли относили к растениям, а потому альгологию рассматривали как раздел ботаники. В современном же понимании водоросли — не таксон, а гетерогенная экологическая группа, к которой относятся представители царств протист, бактерий и растений.

Водоросли — группа организмов различного происхождения, объединённых следующими признаками: наличие хлорофилла и фотоавтотрофного питания; у многоклеточных — отсутствие чёткой дифференцировки тела (называемого слоевищем, или талломом) на органы; отсутствие ярко выраженной проводящей системы; обитание в водной среде или во влажных условиях (в почве, сырых местах и т. п.). Они сами по себе не имеют органов, тканей и лишены покровной оболочки.

Некоторые водоросли способны к гетеротрофии (питанию готовой органикой), как осмотротрофной (поверхностью клетки), например жгутиконосцы, так и путём заглатывания через клеточный рот (эвгленовые, динофитовые). Размеры водорослей колеблются от долей микрона (кокколитофорида и некоторые диатомеи) до 30—50 м (бурые водоросли — ламинария, макроцистис, саргассум). Таллом бывает как одноклеточным, так и многоклеточным. Среди многоклеточных водорослей наряду с крупными есть микроскопические (например, спорофит ламинариевых). Среди одноклеточных есть колониальные формы, когда отдельные клетки тесно связаны между собой (соединены через плазмодесмы или погружены в общую слизь).

К водорослям относят различное число (в зависимости от классификации) отделов эукариот, многие из которых не связаны общим происхождением. Также к водорослям часто относят сине-зелёные водоросли или цианобактерии, являющиеся прокариотами. Традиционно водоросли причисляются к растениям.

### 5.1.1 Цитология

Клетки водорослей (за исключением амёбоидного типа) покрыты клеточной стенкой и/или клеточной оболочкой. Стенка находится снаружи мембраны клетки, обычно содержит структурный компонент (например, целлюлозу) и аморфный матрикс (например, пектиновые или агаровые вещества); также в ней могут быть дополнительные слои (например, спорополлениновый слой у хлореллы).

Фотосинтезирующие (и «маскирующие» их) пигменты находятся в особых пластидах — хлоропластах. Хлоропласт имеет две (красные, зелёные, харовые водоросли), три (эвглены, динофлагелляты) или четыре (охрофитовые водоросли) мембраны. Внутренняя мембрана выпячивается внутрь, образуя складки — тилакоиды, собранные в стопки — граны: монотилакоидные у красных и сине-зелёных, двух- и больше у зелёных и харовых, трёхтилакоидные у остальных. На тилакоидах, собственно, и расположены пигменты. Хлоропласты у водорослей имеют различную форму (мелкие дисковидные, спиралевидные, чашевидные, звёздчатые и т. д.).

Продукты фотосинтеза сохраняются в форме различных запасных веществ: крахмала, гликогена, других полисахаридов, липидов. Помимо прочего липиды, будучи легче воды, позволяют держаться на плаву планктонным диатомовым с их тяжёлым панцирем. В некоторых водорослях образуются газовые пузыри, также обеспечивающие водоросли подъёмную силу.

### 5.1.2 Морфологическая организация таллома

У водорослей выделяют несколько основных типов организации таллома:

- Амёбоидный (ризоподиальный)

Одноклеточные организмы, лишённые твёрдой клеточной оболочки и вследствие этого, не способные сохранять постоянную форму тела. Благодаря отсутствию клеточной стенки и наличию особых внутриклеточных структур клетка способна к ползающему движению посредством псевдоподий или ризоподий. Для некоторых видов характерно образование многоядерного плазмодия путём слияния нескольких амёбоидных клеток.

- **Монадный**

Одноклеточные водоросли, имеющие постоянную форму тела, жгутик(и), часто стигму, а пресноводные — сократительную вакуоль. Клетки активно двигаются в вегетативном состоянии. Часто встречается объединение нескольких монадных клеток в колонию, окружённую общей слизью, в некоторых случаях даже соединяясь между собой посредством плазмодесм.

- **Коккоидный**

Одноклеточные, лишённые каких-либо органоидов передвижения и сохраняющие постоянную форму тела в вегетативном состоянии клетки. Чаще всего имеется утолщённая клеточная стенка или панцирь, могут быть различные выросты, поры и пр. для облегчения парения в толще воды. Многим водорослям с данной структурой свойственно образование колоний.

- **Пальмеллоидный (капсальный)**

Постоянное, достаточно крупное, как правило, прикреплённое к субстрату, образование из нескольких коккоидных клеток, погружённых в общую слизистую массу. В такое состояние могут переходить многие монадные и коккоидные водоросли при наступлении неблагоприятных условий.

- **Нитчатый (трихальный)**

Клетки соединены в нить, простую или разветвлённую. Нити могут свободно плавать в толще воды, прикрепляться к субстрату, либо объединяться в колонию. Вегетативно нитчатые водоросли размножаются обычно распадом нити на отдельные фрагменты.

- **Разнонитчатый (гетеротрихальный)**

Есть две системы нитей: стелющиеся по субстрату горизонтальные и отходящие от них вертикальные. Горизонтальные нити тесно смыкаются, либо могут сливаться в псевдопаренхиматозную пластинку и выполняют, в основном, опорную функцию и функцию вегетативного размножения, вертикальные нити — преимущественно ассимиляторную функцию.

- **Пластинчатый**

Многоклеточные талломы в форме пластинок из одного, двух или нескольких слоёв клеток. Возникают при продольном делении клеток, составляющих нить. Число слоёв зависит от характера образования перегородок при делении клеток.

- **Сифональный (неклеточный, сифоновый)**

Отсутствуют клеточные перегородки, в результате чего таллом, часто крупный и внешне дифференцированный, формально представляет собой одну клетку с большим количеством ядер.

- **Сифонокладальный**

Таллом представлен многоядерными клетками, соединёнными в нитчатые или иной формы многоклеточные талломы (*Siphonocladales*).

- **Харофитный (членисто-мутовчатый)**

Свойственна только харовым водорослям. Таллом крупный, многоклеточный, состоит из *главного побега* с ветвями и отходящими от него, иногда ветвящимися, членистыми *боковыми побегами*. Боковые побеги отходят от главного в области *узлов*, часть побега между узлами состоит, как правило, из одной крупной клетки и называется *междоузлем*.

- Сарциноидный

Колонии, представляющие собой группы (пачки или нитеобразные образования), которые возникают в результате деления одной исходной клетки и заключены в растягивающуюся оболочку этой клетки.

- Псевдопаренхиматозный (ложнотканевый)

Представлен слоевищами, которые образовались в результате срастания разветвлённых нитей, нередко сопровождаемого морфофункциональной дифференциацией получающихся ложных тканей.

У части сине-зелёных, зелёных и красных водорослей в слоевище откладываются соединения кальция, и оно становится твёрдым. Водоросли лишены корней и поглощают нужные им вещества из воды всей поверхностью. Крупные донные водоросли имеют органы прикрепления — подошву (уплощённое расширение в основании) или ризоиды (разветвлённые выросты). У некоторых водорослей побеги стелются по дну и дают новые слоевища.

### 5.1.3 Размножение и циклы развития.

У водорослей встречается вегетативное, бесполое и половое размножение.

**Вегетативное размножение** может осуществляться как простым разделением многоклеточного организма так и при помощи специализированных органов. Например, бурые водоросли из порядка сфацелариевых имеют для этой цели специальные выводковые веточки, а водоросли из порядка харовых — клубеньки на ризоидах.

**Бесполое размножение** водорослей осуществляется при помощи подвижных *зооспор* или неподвижных *апланоспор*.

**Половое размножение.** При половом размножении происходит попарное слияние гаплоидных клеток с образованием диплоидной зиготы. У водорослей есть несколько вариантов полового процесса: *изогамия* — слияние двух одинаковых по форме и размеру подвижных гамет; *гетерогамия* — слияние двух подвижных гамет одинаковых по форме, но разных по размеру; *оогамия* — слияние крупной неподвижной яйцеклетки с мелким подвижным сперматозоидом. Клетки, в которых образуются гаметы, называются *гаметангиями*, а сами растения с гаметангиями — *гаметофитами*. Гаметангии бывают двух типов: образующие многочисленные сперматозоиды — *антеридии* и образующие одну или несколько яйцеклеток *оогонии*. Также половое размножение в некоторых группах водорослей может осуществляться и без образования гамет. Например, если сливаются две подвижные одноклеточные водоросли, то это *хологамия*; слияние протопластов двух неподвижных гаплоидных вегетативных клеток с образованием зиготы — *конъюгация*.

### 5.1.4 Экологические группы водорослей

Мелкие свободноплавающие водоросли входят в состав планктона и, развиваясь в больших количествах, вызывают «цветение» (окрашивание) воды. Бентосные водоросли прикрепляются ко дну водоёма или к другим водорослям. Есть водоросли, внедряющиеся в раковины и известняк (сверлящие); встречаются (среди красных) и паразитические. Крупные морские водоросли, главным образом бурые, образуют нередко целые подводные леса. Большинство водорослей обитает от поверхности воды до глубины 20—40 м, единичные виды (из красных и бурых) при хорошей прозрачности воды опускаются до 200 м. В 1984 г кораллиновая красная водоросль была найдена на глубине 268 м, что является рекордом для фотосинтезирующих организмов. Водоросли нередко в большом количестве живут на поверхности и в верхних слоях почвы, одни из них усваивают атмосферный азот, другие приспособились к жизни на коре деревьев, заборах, стенах домов, скалах. Микроскопические водоросли вызывают красное или жёлтое «окрашивание» снега высоко в горах и в полярных районах. Некоторые водоросли вступают в симбиотические отношения с грибами (лишайники) и животными.

### 5.1.5 Систематика

Водоросли — крайне гетерогенная группа организмов, насчитывающая около 100 тысяч (а по некоторым данным до 100 тыс. видов только в составе отдела диатомовых)

видов. На основании различий в наборе пигментов, структуре хроматофора, особенностях морфологии и биохимии (состав клеточных оболочек, типы запасных питательных веществ) большинством отечественных систематиков выделяется 11 отделов водорослей

- Прокариоты, или Доядерные (лат. *Procaryota*)
- Царство Бактерии (*Bacteria*)
- Подцарство Цианеи (*Cyanobionta*)
- Отдел Сине-зелёные водоросли (*Cyanobacteria*)
- Эукариоты, или Ядерные (*Eucaryota*)
- Царство Растения (*Plantae*)
- Подцарство Водоросли (*Phycobionta*)
- Отдел Зелёные водоросли (*Chlorophyta*)
- Отдел Харовые водоросли (*Charophyta*)
- Отдел Эвгленовые водоросли (*Euglenophyta*)
- Отдел Золотистые водоросли (*Chrysophyta*)
- Отдел Жёлто-зелёные водоросли (*Xanthophyta*)
- Отдел Диатомовые водоросли (*Bacillariophyta*)
- Отдел Динофитовые водоросли (*Dinophyta*)
- Отдел Криптофитовые водоросли (*Cryptophyta*)
- Отдел Бурые водоросли (*Phaeophyta*)
- Подцарство Багрянки (*Rhodobionta*)
- Отдел Красные водоросли (*Rhodophyta*)

#### 5.1.6 Роль в природе и жизни человека

Роль в биогеоценозах. Водоросли — главные производители органических веществ в водной среде. Около 80 % всех органических веществ, ежегодно создающихся на Земле, приходится на долю водорослей и других водных растений. Водоросли прямо или косвенно служат источником пищи для всех водных животных

Пищевое применение. Некоторые, в основном морские, употребляются в пищу (морская капуста, порфира, ульва). В приморских районах водоросли идут на корм скоту и удобрение. В ряде стран водоросли культивируют для получения большого количества биомассы, идущей на корм скоту и используемой в пищевой промышленности.

Съедобные водоросли — богаты минеральными веществами, особенно йодом, продукт — используется в восточноазиатских кухнях. Одно из самых популярных блюд с водорослями — суши.

Водоочистка. Многие водоросли — важный компонент процесса биологической очистки сточных вод. Бурное развитие нитчатых и планктонных водорослей (цветение воды) может создавать проблемы в работе очистных сооружений систем водоснабжения.

В фармацевтической промышленности. Из водорослей получают: студне- и слизиобразующие вещества — агар-агар (анфельция, гелидиум), агароиды (филлофора, грацилярия), карраген (хондрус, гигартина, фурцелярия), альгинаты (ламинариевые и фукусковые), кормовую муку, содержащую микроэлементы и йод.

Водоросли участвуют в образовании некоторых типов лечебных грязей.

Химическая промышленность. Человек использует морские водоросли в химической промышленности. Из них получают иод, альгиновую кислоту, агар-агар, калийные соли целлюлозу, спирт, уксусную кислоту.

В науке. Водоросли широко применяют в экспериментальных исследованиях для решения проблем фотосинтеза и выяснения роли ядра и других компонентов клетки.

Биотестирование. Водоросли являются одним из наиболее широко применяемых биообъектов при биотестировании химических веществ и образцов природных и загрязнённых вод.

#### 5.2. Лихенология.

Лишайники — это симбиотические организмы, тело которых (таллом) образовано соединением грибных (**микобионт**) и водорослевых и/или цианобактериальных (**фотобионт**) клеток во внешне кажущемся однородным организмом.

Лишайники, состоящие из гриба одного вида и цианобактерии (сине-зелёной водоросли) (*цианолишайник*, например, *Peltigera horizontalis*) или водоросли (*фиколишайник*, например, *Cetraria islandica*) одного вида, называют *двухкомпонентными*; лишайники, состоящие из гриба одного вида и двух видов фотобионтов (одной цианобактерии и одной водоросли, но никогда не двух водорослей или двух цианобактерий), называют *трёхкомпонентными* (например, *Stereocaulon alpinum*). Водоросли или цианобактерии двухкомпонентных лишайников питаются автотрофно. В трёхкомпонентных лишайниках водоросль питается автотрофно, а цианобактерия, по-видимому, питается гетеротрофно, осуществляя азотфиксацию. Гриб питается гетеротрофно ассимилятами партнера(ов) по симбиозу.

Из известных видов грибов в образовании лишайников участвует около 20 %, в основном это аскомицеты (~98 %), остальное базидиомицеты (~0,4 %). Существуют также актинолишайники, в которых место гриба актиномицеты. Фотобионт в 85 % представлен зелёной водорослью, встречаются 80 видов из 30 родов, наиболее важным из которых является *Trebouxia* (входит в состав более чем 70 % видов лишайников). Из цианобактерий (в 10—15 % лишайников) участвуют представители всех крупных групп, кроме *Oscillatoriales*, наиболее распространён *Nostoc*.

Отношения фотобионта и гриба можно описать как контролируемый паразитизм со стороны последнего. Контакт между компонентами лишайника может быть различен:

1. нет прямого контакта,
2. через поверхности,
3. гриб посредством гаусторий проникает в тело водоросли.

Микобионт получает от фотобионта питательные вещества, производимые тем в результате фотосинтеза. Гриб же создаёт водоросли более оптимальный микроклимат: защищает её от высыхания, экранирует от ультрафиолетового излучения, обеспечивает жизнь на кислых субстратах (поставляя фосфаты) смягчает действие ряда других неблагоприятных факторов. Из зелёных водорослей поступают многоатомные спирты, такие как рибит, эритрит или сорбит, которые легко усваиваются грибом. Цианобактерии поставляют в гриб в основном глюкозу, а также азотсодержащие вещества, образуемые благодаря осуществляемой ими фиксации азота.

#### Вопросы для самоконтроля:

1. Расскажите о строении водорослей.
2. Расскажите о строении лишайников.
3. Расскажите о классификации водорослей.
4. Расскажите о размножении водорослей.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

##### Основная

1. **Ассонов, Н.Р.** Микробиология / Н.Р. Ассонов. – М.: Колос, 2011. – 352 с.
3. **Гусев, М.В.** Микробиология / М.В. Гусев, Л.А. Минаева. – М.: Академия, 2008. – 464 с.
3. **Емцев, В.Т., Мишустин, Е.Н.** Микробиология / В.Т. Емцев, Е.Н. Мишустин. – М.: Дрофа, 2005. – 446 с.
4. Ботаника: Курс альгологии и микологии. Под ред. Ю. Т. Дьякова. — М.: Издательство МГУ, 2007

##### Дополнительная

1. **Громов, Б.В.** Строение бактерий / Б.В. Громов. – Л.: Изд-во ЛГУ, 1985. – 189 с.
2. **Шлегель, Г.** Общая микробиология / Г. Шлегель. – М.: Мир, 1987, – 568 с.
3. Краткий определитель Берги. – М.: Мир, 1980. – 496 с.
4. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии / А.А. Воробьёв, [и др.]. – М.: Мастерство; Высшая школа, 2001. – 224 с.

## КЛЕТОЧНАЯ И СУБКЛЕТОЧНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ЭУКАРИОТ И ПРОКАРИОТ.

Элементарной физической единицей живого является клетка; это наименьшая жизнеспособная единица. Изучение тонкого строения различных типов клеток позволило выявить заметные различия между бактериями и цианобактериями с одной стороны и животными и растения с другой стороны. Различия между ними настолько глубоки, что эти две группы противопоставляются друг другу как прокариоты и эукариоты.

### 6.1. Строение эукариотической клетки.

Структура ядра и способ его деления – наиважнейшие и самые характерные признаки, отличающие эукариотическую клетку от прокариотической. Ядро окружено ядерной оболочкой – двойной перфорированной мембраной. ДНК, несущая генетическую информацию, распределена между отдельными субъединицами – хромосомами, которые становятся видимыми только во время деления ядра. Ядро делится путём митоза; митоз обеспечивает а) идентичную редупликацию генетического материала; 2) передачу полного набора хромосом каждому из дочерних ядер.

Клетка снаружи окружена цитоплазматической мембраной. Для эукариотической клетки характерно выраженное подразделение цитоплазмы на множество обособленных пространств. Они имеют вид цистерн и пузырьков и создаются в результате впячивания цитоплазматической мембраны; однако помимо этого в цитоплазме эукариотов содержатся митохондрии и хлоропласты, которые со всех сторон окружены мембранами. Из впячиваний цитоплазматической мембраны образуется эндоплазматический ретикулум (ЭР). Часть ЭР образует наружную ядерную мембрану, и таким образом, окружает ядро; в ядерной оболочке имеются поры, которые обеспечивают беспрепятственный транспорт нуклеиновых кислот, белков и метаболитов между ядерным пространством и цитоплазмой. Часть мембраны усеяна мельчайшими гранулами – рибосомами; это так называемый «шероховатый», или гранулярный, ЭР. На рибосомах осуществляется синтез белков. Свободно плавающие в цитоплазме или прилегающие к ЭР рибосомы относятся к типу 80S.

В эукариотических клетках есть ещё два вида органелл, окружённых мембранами, – митохондрии и хлоропласты. Митохондрии осуществляют дыхание; эти образования изменчивой формы, богатые липидами, имеют две мембраны – наружную и сильно складчатую внутреннюю. (с кристами и трубочками). Внутренняя мембрана содержит компоненты электрон-транспортной цепи и АТФ-синтазу. В клетках водорослей и высших растений наряду с митохондриями имеются также и хлоропласты. Внутренние мембраны хлоропластов (тилакоиды) содержат фотосинтетические пигменты и компоненты фотосинтетического транспорта электронов.

Основные отличия прокариот от эукариот состоят в том, что прокариоты не имеют: 1) в клетке прокариот отсутствуют оформленное ядро и органоиды заключённые в оболочки (митохондрии, эндоплазматическая сеть, аппарат Гольджи и др.);

2) Прокариоты не способны к пиноцитозу и фагоцитозу;

3) Отсутствует митотический аппарат;

4) Геном, представлен молекулой ДНК замкнутой в кольцо;

5) Содержат только один тип рибосом с константой седиментации—70S.

6) Некоторые бактерии имеют структуры, которые отсутствуют у эукариот: жгутики, эндоспоры, включения, окружённые белковой мембраной.

### 6.2 Строение прокариотической клетки.

#### Основы морфологии бактерий.

Клетка им. < размер, чем эукариотическая, длина ~ 1мкм, d=0,4-0,7мкм.

На заре развития микробиологии все многообразие микроорганизмов делили на 3 группы: шаровидные, палочковидные и извитые.

Шаровидные микроорганизмы называются кокками (от лат. *coccus*--зерно). В свою очередь кокки, расположенные одиночно называют микрококками, попарно—диплококками, по четыре—тетракокками, цепочкой—стрептококками (греч. *streptos*-цепь), в виде грозди винограда—стафилококками (от греч. *staphyle*--гроздь). Кокки, образующие скопления в виде пакетов, кубиков или пластин называются сарцинами (лат. *sarcio*--связываю).

Палочковидные микроорганизмы имеют осевую симметрию и цилиндрическую форму клетки. Различают 2 типа палочек: спорообразующие или бациллы (лат. *bacillum*--палочка), и неспорообразующие—бактерии (греч. *bacterion*--палочка).

В зависимости от расположения палочковидные микробы подразделяют на одиночные; расположенные попарно—диплобациллы, диплобактерии; в виде цепочек различной длины—стрептобациллы и стрептобактерии.

Извитые микроорганизмы имеют спиральную симметрию. В эту группу входят вибрионы, спириллы и спирохеты. Вибрионы (лат. *vibrio*--извиваюсь) имеют форму запятой. К вибрионам относится возбудитель такой страшной болезни, как холера—*Vibrio cholerae*.

Спириллы (лат. *spira*--изгиб)— микроорганизмы, имеющие форму спирально извитых палочек с 4—6 завитками.

Спирохеты (греч. *spēgia*—изгиб, *chaite*—длинный волос)— клетки имеющие более 8 спиральных завитков.

В структуре бактериальной клетки выделяют основные и временные компоненты.

К основным компонентам относят клеточную стенку, цитоплазматическую мембрану, цитоплазму, рибосомы, нуклеоид.

Временные структуры образуются лишь на определенных этапах жизненного цикла бактерий. К ним относятся капсула, жгутики, пили, споры.

**Клеточная стенка** это внешняя оболочка клетки толщиной 10—100 нм

В составе клеточной стенке выделяют 1) наружную мембрану; 2) пептидогликан; 3) цитоплазматическая мембрана

Основным компонентом клеточной стенки всех бактерий является муреин (лат. *muris*--стенка) или *пептидогликан*. Следует отметить, что структурная организация пептидогликана у разных бактерий имеет свои особенности.

В 1884 датский врач Х. К. Грам предложил метод окраски бактерий несколькими анилиновыми красителями (генцианвиолет и фуксин) в результате которого одни микробы приобретали фиолетовый цвет (грамположительные), а другие красный (грамотрицательные).

Секрет окраски заключался в том, что определенная группа бактерий прочно фиксировала на своей поверхности комплекс генцианвиолета и йода и потому окрашивалась в фиолетовый цвет. Такие бактерии называют грамположительные. Другие микроорганизмы после действия этилового спирта обесцвечивались и воспринимали цвет дополнительного красителя красного фуксина, такие микробы принято называть грамотрицательными.

Клеточная стенка грамположительных бактерий имеет большую толщину (до 100 нм) и на 80—90 % состоит из пептидогликана (Воробьев А. А., 1998). Она плотно прилегает к цитоплазматической мембране. Отличительной особенностью является наличие в клеточной стенке таких микробов теихоевых кислот. Именно теихоевые кислоты обеспечивают биохимическую стабильность клеточных стенок грамположительных бактерий.

У грамотрицательных бактерий клеточная стенка намного тоньше—5—15 нм. Пептидогликановый слой очень тонкий—2 нм, он как бы «плавает» в периплазматическом пространстве, окруженном снаружи внешней мембраной, а внутри цитоплазматической мембраной или плазмолемой. *Наружная (внешняя) мембрана* расположена снаружи от

пептидогликана и состоит из фосфолипидов, белков, липопротеина и липополисахарида. Специфическим компонентом наружной мембраны является липополисахарид сложного молекулярного строения, занимающий около 30—40% ее поверхности и локализованный во внешнем слое.

В мире микробов встречаются формы, полностью лишенные клеточной стенки—протопласты, сферопласты и L—формы. Утрата клеточной стенки бактериями является следствием действия каких—либо неблагоприятных факторов внешней среды: литических ферментов, антибиотиков пенициллинового ряда, вирусов бактерий—бактериофагов. Протопласты и сферопласты нестойкие образования, которые вскоре погибают. В отличие от них L—формы устойчивы во внешней среде и способны к самовоспроизводству.

Функции клеточной стенки:

- 1) определяет и сохраняет постоянную форму;
- 2) защищает внутреннюю часть от действия механических и осмотических сил внешней среды;
- 3) участвует в регуляции роста и делении клетки;
- 4) обеспечивает коммуникации с внешней средой через каналы и поры, осуществляя транспорт веществ и ионов;
- 5) препятствует проникновению в клетку токсических веществ;
- 6) несёт на себе специальные рецепторы для бактериальных фагов;
- 7) в клеточной стенке находятся антигены (липополисахарид у грамотрицательных бактерий и тейхоевые кислоты и грамположительных бактерий);
- 8) нарушение синтеза клеточной стенки является главной причиной эутрансформации бактерий;
- 9) на клеточной стенке находятся рецепторы, ответственные за взаимодействие клеток донора и реципиента при конъюгации бактерий.

*Цитоплазматическая мембрана (плазмолема).*

Цитоплазматическая мембрана (ЦПМ) неотъемлемая часть любой бактериальной клетки, она составляет 8-15 % сухого вещества клетки. Химический состав цитоплазматической мембраны представлен на 75 % белками и на 15 % липидами (Громов Б. В., 1985). Структурно цитоплазматическая мембрана состоит из 3-х слоев: 2-х белковых (2—3 нм каждый) и между ними один липидный (4—5 нм) (Асонов Н. Р., 1997). В процессе роста клетки цитоплазматическая мембрана способна образовывать выпячивания или инвагинации, которые называются мезосомами. Назначение мезосом окончательно не выяснено.

Цитоплазматическая мембрана выполняет ряд существенных для клетки функций:

- 1) поддержание внутреннего постоянства клетки;
- 2) выполняет роль осмотического барьера клетки
- 3) транспорт веществ в клетку и вывод их наружу;
- 4) участвует в синтезе клеточной стенки и капсулы;
- 5) является местом протекания различных биохимических реакций.
- 6) в цитоплазматической мембране закреплены жгутики.

**Цитоплазма.** Содержимое клетки, окруженное ЦПМ, называется цитоплазмой. Фракция цитоплазмы, имеющая гомогенную консистенцию и содержащая набор растворимых РНК, ферментных белков, продуктов и субстратов метаболических реакций, получила название цитозоля. Другая часть цитоплазмы представлена разнообразными структурными элементами: внутрицитоплазматическими мембранами (если они есть), генетическим аппаратом, рибосомами и включениями разной химической природы и функционального назначения.

**Рибосомы** — место синтеза белка — рибонуклеопротеиновые частицы размером 15—20 нм. Их количество в клетке зависит от интенсивности процессов белкового синтеза и колеблется от 5000 до 90 000. Общая масса рибосом может составлять примерно

1/4 клеточной массы, а количество рибосомальной РНК (рРНК) — 80–85% всей бактериальной РНК. Рибосомы прокариот имеют константу седиментации—70S (скорость осаждения частицы при центрифугировании). Структурно рибосомы делятся на 2 субъединицы: 30S и 50S. Каждая субъединица состоит из РНК и белка. Большая часть рибосомальных белков выполняет структурную функцию. Синтез белка осуществляется агрегатами, состоящими из рибосом, молекул информационной и транспортных РНК и называемыми полирибосомами, или полисомами. Последние могут находиться в цитоплазме или же быть связанными с мембранными структурами.

**Нуклеоид.** Ядро у прокариот называется нуклеоидом. Он представляет собой двойную нить ДНК замкнутую в кольцо, которая в развернутом и деспирализованном виде имеет длину около 1,4 мм, т.е. в 1000 раз превосходит длину самой клетки (Мудрецова—Висс К. А., 1985). Кроме ДНК в состав нуклеоида входит РНК—полимераза, собственно РНК, основные белки и липиды. Хромосома микроорганизмов всегда связана с цитоплазматической мембраной, при этом число точек прикрепления может быть около 20 и более (Громов Б. В., 1985).

Кроме хромосом у бактерий обнаружены и внехромосомные генетические элементы—плазмиды. Термин «плазмиды» ввел американский микробиолог Д. Ледерберг в 1952 г. (Воробьев А. А. в соавт., 1998). Плазмиды представляют собой ДНК замкнутую в кольцо размером до 5 % от величины хромосомы, и несут гены, придающие бактериям дополнительные свойства (Пехов А. П., 1986).

**Включения.** Включения необязательный компонент бактериальной клетки, разнообразны по форме, химическому составу и назначению. Они могут быть твердыми, жидкими и газообразными. Принято различать 2 типа включений: ограниченные мембраной и лишённые мембран.

Газовые вакуоли относятся к мембранным включениям. Это преимущественно полые цилиндры длиной до 1000 нм и диаметром около 80 нм. Состав газа в вакуолях соответствует газовому составу окружающей среды. Наиболее богата газовыми вакуолями цитоплазма водных бактерий.

Основная масса включений это запасные питательные вещества. К таким образованиям относят полисахаридные, волютиновые, поли-β-оксимасляные включения. Полисахаридные включения бывают размером до 200 нм и лишены мембран. Накопление полисахаридов обычно стимулируется недостатком азота и регулируется на уровне генома. Аккумулированный полисахарид служит источником энергии и углерода. Накопление поли-β-оксимасляной кислоты, характерно только для прокариот. Гранулы этого вещества окружены в цитоплазме мембраной. Образующиеся при распаде гранул вещества используются для роста бактериальной клетки. Конгломераты волютина образованы преимущественно полифосфатами и имеют вид округлых телец размером до 1 мкм. Волютин способен растворяться в щелочах и горячей воде.

**Капсула.** Слизистый слой, покрывающий всю поверхность бактериальной клетки называют капсулой. Капсулу образуют не все микроорганизмы. В зависимости от толщины слизистого слоя различают микрокапсулу (менее 0,2 мкм) и макрокапсулу (более 0,2 мкм). Основное вещество капсулы полисахариды и фосфаты. У представителей рода *Bacillus* капсула состоит из полипептидов. Капсула может быть легко отделена от клетки, но это не приводит к ее гибели. Несмотря на это капсула выполняет важную биологическую роль: защита от неблагоприятных факторов внешней среды, поглощение влаги, средства прикрепления бактерий к субстрату. Обнаружение капсулы важный видовой признак. Существуют специальные методы окраски, выявляющие капсулу (окраска по Ольту, Михину, Гимза—Романовскому).

**Жгутик** не является жизненно важной структурой и поэтому присутствует не у всех микроорганизмов. Он обеспечивает подвижность бактерий. Длина жгутика может превышать длину клетки, и обычно составляет 10—90 мкм.

Жгутик состоит из 3-х частей: спиральной нити из белка флагелина, крюка и базального тельца. Основную массу жгутика составляет длинная спиральная нить (фибрилла), у поверхности клеточной стенки переходящая в утолщенную изогнутую структуру—крюк. Нить с помощью крюка прикреплена к базальному телу, вмонтированному в ЦПМ и клеточную стенку. У большинства прокариот нить состоит только из одного типа белка — флагеллина. Базальное тельце—сложная структура, состоящая из центральной оси и колец. Различают монотрихи—одножгутиковые, амфитрихи — с 2-мя полярно расположенными жгутиками или пучками, лафатрихи — пучок жгутиков на одном конце, перитрихи — по всей поверхности клетки. Обычно бактерии передвигаются хаотично, но возможно и направленное движение—таксис.

**Пили.** Пили (фимбрии) представляют собой прямые тонкие (3—25 нм) полые выросты длиной до 15 мкм на поверхности бактериальной клетки. Основу пилей составляет белок пилин. Различают 2 типа пилей: общего назначения и половые (sex-пили). Пили общего назначения предназначены для прилипания микробов к субстрату (клетки растений, грибов, животных и человека, а также неорганическим соединениям). Половые пили необходимы бактериям для обмена генетической информацией (ДНК) между клеткой — донором и клеткой — реципиентом.

#### **Споры и спорообразование.**

Споры образуют только грамположительные палочки (исключение — округлый микроб *Sporosarcina ureae*). Споры рассматриваются как особый тип покоящихся клеток. Это всего лишь сохранение жизнеспособности в неблагоприятных условиях (недостаток влаги, источников энергии, изменение pH). Строение спор однотипно у всех бактерий. В центре располагается спороплазма, содержащая нуклеиновую кислоту, белки и специфическую для спор дипиколиновую кислоту. Спороплазма окружена многочисленными оболочками, самая массивная из них носит название кортекс. Спорообразование сложный и многоступенчатый процесс. Схематично его можно отобразить следующим образом: 1) образование осевого тяжа, включающего бактериальную ДНК; 2) образование круглой проспоры; 3) образование толстого муреинового слоя — кортекса; 4) окончательное обособление споры.

Весь процесс спорообразования занимает 8 ч.

#### **Вопросы самоконтроля**

1. Строение прокариотической клетки. Отличия прокариот от эукариот.
2. Оболочка бактериальной клетки, её состав (клеточная стенка, плазмолема, плазматическая мембрана).
3. Роль цитоплазматической мембраны, нуклеоида, рибосом в бактериальной клетке.
4. Строение эукариотической клетки. Отличия прокариот от эукариот.

#### **СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

##### *Основная*

1. **Ассонов, Н.Р.** Микробиология / Н.Р. Ассонов. – М.: Колос, 2011. – 352 с.
2. **Гусев, М.В.** Микробиология / М.В. Гусев, Л.А. Минаева. – М.: Академия, 2008. – 464 с.
3. **Емцев, В.Т., Мишустин, Е.Н.** Микробиология / В.Т. Емцев, Е.Н. Мишустин. – М.: Дрофа, 2005. – 446 с.

##### *Дополнительная*

1. **Громов, Б.В.** Строение бактерий / Б.В. Громов. – Л.: Изд-во ЛГУ, 1985. – 189 с.
2. **Шлегель, Г.** Общая микробиология / Г. Шлегель. – М.: Мир, 1987, – 568 с.
3. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии / А.А. Воробьёв, [и др.]. – М.: Мастерство; Высшая школа, 2001. – 224 с.

## ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ КЛЕТКИ. РОСТ, РАЗМНОЖЕНИЕ И ПИТАНИЕ ПРОКАРИОТ.

### 8.1 Химический состав клетки

Бактериальная клетка состоит из органоенов – азота, углерода, кислорода и водорода. На долю азота приходится 8 -15 % сухого остатка, углерода – 45-55 %, кислорода – 30 %, водорода 6 – 8 %. Из различных элементов и их соединений микроорганизмы синтезируют белки, нуклеопротеиды, углеводы, липиды, нуклеиновые кислоты, глюколипиды, глицеролипидо-протеидные комплексы, ферменты и витамины.

Содержание воды в цитоплазме большинства видов бактерий - 75 – 85 %. По количеству вода является главной составной частью клетки; она находится в свободном состоянии или связана с другими составными частями. Связанная вода -не может быть растворителем. Свободная вода – дисперсная среда для коллоидов и растворитель для кристаллических веществ, источник водородных и гидроксильных ионов, участник химических реакций.

Сухая биомасса составляет 15-30 %. Сухое вещество: 50% белки, 10-20% компоненты клеточной стенки, РНК – 10-20%, ДНК-3-4 %, липиды 10%, углеводы -12- 18 %. Химические элементы в клетке делятся на 3 группы: макро-, микро-, ультрамикроэлементы. Макроэлементы: Н (> 60 %), О (~ 25%), N (~ 3%). Микроэлементы в сумме составляют 2-3%, это Mg, Na, Ca, Fe, K, S, P, Cl. Ультрамикроэлементы: суммарное содержание 0,1%, это Zn, Co, Cu, I, F, Mn и др. Микро- и ультрамикроэлементы входят в состав различных ферментов, витаминов, гормонов и обуславливают тем самым нормальное развитие и функционирование структур клетки.

**8.2. Ферменты** – биологические катализаторы высокомолекулярной структуры, вырабатываемые живой клеткой, т.е. ускоряют скорость биохимических реакций в десятки и сотни миллионов раз. Ферменты имеют белковую природу с молекулярной массой от 10000 до нескольких миллионов, они высокоспецифичны: каждый фермент катализирует определённый тип реакций. Специфичность их связана с активными центрами, образуемыми группой аминокислот.

Согласно классификации, разработанной Международным биохимическим союзом, все ферменты делят на 6 классов.

1. Оксидоредуктазы - ускоряют реакции окисления - восстановления. (НАД, НАДФ)
2. Трансферазы - ускоряют реакции переноса функциональных групп, отдельных радикалов, частей молекул и молекулярных остатков. (ацетилтрансфераза)
3. Гидролазы - ускоряют реакции гидролитического распада (протеолитические ферменты)
4. Лиазы - ускоряют не гидролитическое отщепление от субстратов определенных групп атомов с образованием двойной связи (или присоединяют группы атомов по двойной связи). (пируватдекарбоксилаза катализирует отщепление CO<sub>2</sub> от пировиноградной кислоты с образованием уксусного альдегида).
5. Изомеразы - ускоряют пространственные или структурные перестройки в пределах одной молекулы. Осуществляют превращение органических соединений в их изомеры. (глюкозофосфатизомераза)
6. Лигазы - ускоряют реакции синтеза, сопряженные с распадом богатых энергией связей. Катализируют синтез сложных органических соединений из простых (аспарагинсинтетаза осуществляет синтез амида аспарагина из аспарагиновой кислоты и аммиака с участием АТФ).

Эти классы и положены в основу новой научной классификации ферментов.

В соответствии со строением ферменты делятся на 2 класса: 1) представляющие собой простые белки (гидролитические ферменты); 2) являющиеся сложными белками (ферменты, осуществляющие функцию окисления). Они кроме белковой части (апофермента), имеют небелковую группу (кофактор). В отдельности и белковая и небелковая группа лишены ферментативной активности, они приобретают её лишь

соединившись и образовав холофермент. Кофакторами могут быть Fe, Cu, Co, Zn, Mo или сложные органические соединения (накотинамиддинуклеотид (НАД) и никотинамиддинуклеотидфосфат (НАДФ)), называемые коферментами. Коферменты играют роль промежуточных переносчиков электронов с одного соединения на другое.

### **8.3. Рост и размножение микроорганизмов.**

Термин рост обозначает увеличение цитоплазматической массы отдельных клеток или группы бактерий в результате синтеза клеточного материала (белков, ДНК, РНК). Достигнув определённого размера, клетки начинают делиться. Размножение – это способность микробов к самовоспроизведению, это увеличение числа клеток микроорганизмов на единицу объёма. Бактерии размножаются простым поперечным делением в различных плоскостях с формированием многообразных сочетаний клеток (гроздь, цепочки, парные соединения). Первый этап начинается с образования в средней части клетки поперечной перегородки, состоящей из цитоплазматической мембраны. Параллельно с этим синтезируется клеточная стенка, образуя полноценную перегородку. В процессе деления важным условием является репликация ДНК, которая осуществляется ферментами ДНК-полимеразами. При удвоении ДНК происходит разрыв водородных связей и образование двух спиралей ДНК, каждая из которых находится в дочерних клетках. Дочерние одноцепочечные ДНК восстанавливают водородные связи и вновь образуют двух спиральные ДНК. Репликация ДНК и деление клетки происходит с определённой скоростью. *E.coli* – 16-20 минут, микобактерии – 18-20 часов.

Различают 3 типа деления: 1) клеточное деление опережает разделение – образуются «многоклеточные» палочки и кокки; 2) синхронное – образуются одноклеточные организмы; 3) деление нуклеоида опережает клеточное деление – образуются многонуклеотидные бактерии.

Разделение бактерий происходит 3 способами: 1) разламывающее разделение, когда две индивидуальные клетки, неоднократно переламываясь в месте сочленения, разрывают цитоплазматический мостик и отталкиваются друг от друга, при этом образуются цепочки (сибиреязвенные бациллы); 2) скользящее разделение (*E.coli*), при котором после деления клетки обособляются и одна из них скользит по поверхности и другой; 3) секущее разделение – одна из разделившихся клеток свободным концом описывает дугу круга, центром которой является точка её контакта с другой клеткой, образуя римскую пятёрку (коринебактерии дифтерии).

При условии наличия питательной среды рост и размножение бактерий принято изображать графически. В кривой роста различают фазы: 1) исходная (стационарная, латентная, фаза покоя (1-2 часа)) – время от момента посева бактерий до начала их роста; 2) фаза задержки размножения. Клетки интенсивно растут, но слабо размножаются (2 часа) (фаза 2 и 3 обычно объединены в лаг-фазу); 3) фаза экспоненциальная или логарифмическая: логарифм числа клеток увеличивается линейно, скорость размножения максимальна, в этой фазе бактерии обладают максимальной биохимической и биологической активностью; период генерации постоянен для данного вида 5-6 часов; 4) фаза отрицательно ускорения: скорость размножения перестаёт быть максимальной. Число делящихся особей уменьшается, число погибших увеличивается (2 часа); 5) стационарная: число новых бактерий = числу отмерших (2 часа); 6) фаза ускоренной гибели (3 часа); 7) фаза логарифмической гибели 5 часов – отмирание происходит с постоянной скоростью; 8) фаза уменьшения скорости отмирания. Остающиеся в живых клетки переходят в состояние покоя.

### **8.5 Питание микроорганизмов.**

Микроорганизмы как и все другие живые существа нуждаются в пище. Она поступает в их клетки из внешней среды.

Поступление воды и растворённых в ней питательных веществ из окружающей среды внутрь микробной клетки, а также выход продуктов обмена происходит через

клеточную стенку. Активная роль в этом процессе принадлежит цитоплазматической мембране.

### **1). Механизмы транспорта через цитоплазматическую мембрану**

Выделяют 4 механизма, с помощью которых вещества проходят через цитоплазматическую мембрану.

1) Пассивная диффузия – транспорт вещества происходит под действием разности концентраций в среде и клетке. 2) Облегчённая диффузия – транспорт веществ через мембрану осуществляется с помощью специфических переносчиков – белков пермеаз. Процесс осуществляется за счёт разницы концентраций в среде и клетке. 3) Активный транспорт также связан с работой специфических белков-переносчиков, плюс в нём задействована система, обеспечивающая транспорт энергией. Такой транспорт может идти против градиента концентрации, т.е. из области с меньшей концентраций в сторону большей. 4) Перенос групп – так транспортируются сахара, происходит перевод сахаров в химически изменённую форму, не способную проникать через мембрану. Внутри цитоплазматической мембраны сахар связывается с фосфорилированным ферментом и образующийся сахарофосфат поступает в цитоплазму.

### **2). Типы питания микроорганизмов.**

К числу важных химических элементов, необходимых для синтеза органических соединений относятся С, О, Н, N. Свою потребность в О и Н бактерии удовлетворяют через воду. Сложнее обстоит дело с С и N.

По способу углеродного питания микроорганизмы делятся на автотрофы и гетеротрофы. Автотрофы – организмы, которые в качестве единственного источника углерода используют  $\text{CO}_2$  воздуха. Чтобы восстановить  $\text{CO}_2$  в органическое соединение требуется энергия. Существует два источника энергии: фотосинтез и хемосинтез, а автотрофы делятся на фотоавтотрофов и хемоавтотрофов.

Фотоавтотрофы используют в качестве энергии – энергию солнечного света. К ним относятся цианобактерии, пурпурны и зелёные бактерии.

Хемоавтотрофы используют в качестве энергии – энергию окисления неорганических соединений. К ним относятся нитрифицирующие бактерии, серные бактерии, водородокисляющие бактерии, железобактерии.

Гетеротрофы – организмы, которые получают углерод в виде готовых органических соединений. Гетеротрофы- возбудители разного рода брожений, гнилостные микробы, а также болезнетворные микроорганизмы. Гетеротрофы делятся на сапрофитов - это гетеротрофы, которые используют мёртвые органические субстраты (гнилостные микробы) и паразитов – это гетеротрофы, использующие живые ткани животных и растений.

В качестве источника углерода гетеротрофы чаще всего используют углеводы, спирты, различные органические кислоты. Наиболее полноценными источниками углерода для питания этих микробов являются сахара (глицерин, манит, сорбит), а также карбоновые и оксикислоты. Все эти источники обычно и включают в состав искусственных питательных сред для выращивания микроорганизмов.

По способу азотного питания микроорганизмы делятся на аминокавтотрофы, аминокгетеротрофы.

Аминокавтотрофы способны полностью удовлетворить свои потребности в N, необходимом для синтеза нуклеиновых и аминокислот, с помощью атмосферного и минерального азота. К ним относятся свободноживущие азотофиксирующие бактерии (например, *Azotobacter*), и симбиотические клубеньковые азотофиксирующие бактерии (например, *Rizobium*).

Аминокгетеротрофы нуждаются для своего питания в готовых органических веществах.

В качестве универсального источника азота и углерода в питательных средах для патогенных микробов применяют пептоны. Потребность микроорганизмов в зольных

элементах незначительна. Необходимые для их жизни минеральные соли (сера, фосфор и др.) почти всегда имеются в естественной питательной среде. Сера воспринимается бактериями в основном из сульфатов или органических соединений аминокислот (цистин, цистеин). Фосфор входит в состав нуклеопротеидов и фосфолипидов бактериальной клетки. Источником фосфора являются различные фосфорнокислые соли, например  $\text{Na}_3\text{PO}_4$ . Калий, магний, железо микроорганизмы получают из различных солей. Микроэлементы бор, цинк, марганец, кобальт и др. встречаются в микробах в ничтожных количествах и служат стимуляторами роста микробов.

### **Вопросы самоконтроля**

1. Химический состав микроорганизмов.
2. Перечислите основные классы ферментов.
3. Понятие роста и размножения микроорганизмов. Кривая роста.
4. Механизмы транспорта через цитоплазматическую мембрану.
5. Типы питания микроорганизмов.

### **СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

#### *Основная*

1. **Ассонов, Н.Р.** Микробиология / Н.Р. Ассонов. – М.: Колос, 2011. – 352 с.
2. **Гусев, М.В.** Микробиология / М.В. Гусев, Л.А. Минаева. – М.: Академия, 2008. – 464 с.
3. **Емцев, В.Т., Мишустин, Е.Н.** Микробиология / В.Т. Емцев, Е.Н. Мишустин. – М.: Дрофа, 2005. – 446 с.

#### *Дополнительная*

1. **Громов, Б.В.** Строение бактерий / Б.В. Громов. – Л.: Изд-во ЛГУ, 1985. – 189 с.
2. **Готшлак, Г.** Метаболизм бактерий / Г. Готшлак. – М.: Мир, 1982. – 310 с.
3. **Шлегель, Г.** Общая микробиология / Г. Шлегель. – М.: Мир, 1987, – 568 с.
4. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии / А.А. Воробьев, [и др.]. – М.: Мастерство; Высшая школа, 2001. – 224 с.

**ОБМЕН ВЕЩЕСТВ У БАКТЕРИЙ. ДЫХАНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ.****9.1. Обмен веществ у бактерий.**

Всем организмам присущ постоянный обмен веществ с окружающей их внешней средой. Для осуществления процессов питания и размножения необходимо наличие питательных материалов, из которых микробы синтезируют составные части своего тела и получают путём окисления и восстановления различных веществ необходимую энергию. Источником энергии для бактерий служат свет, неорганические и органические вещества. Попав внутрь клетки микроорганизма, питательное вещество участвует во множестве разнообразных химических реакциях. Эти реакции, а также все остальные химические проявления жизнедеятельности микроорганизмов носят общее название метаболизма или обмена веществ. Атмосферный воздух содержит приблизительно 78 % азота, 21 % кислорода и 0,03 – 0,09 % CO<sub>2</sub>. Газообразный азот может использоваться только азотфиксирующими бактериями, CO<sub>2</sub> – единственный источник углерода для автотрофных бактерий. У остальных видов бактерий важную роль в метаболизме играет кислород. Обмен веществ включает в себя две группы жизненно важных процессов – энергетический и конструктивный обмен.

Конструктивный обмен (анаболизм) – совокупность биохимических реакций, осуществляющих синтез компонентов клетки. Процесс биосинтеза связан с потреблением энергии.

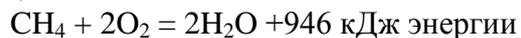
Энергетический обмен (катаболизм) – совокупность биохимических реакций, осуществляющих расщепления пищевых веществ – углеводов, жиров, белков, в результате чего выделяется энергия, которая необходима для конструктивного обмена. У микроорганизмов выделяют две основные формы катаболизма – аэробное дыхание и брожение.

**9.2. Дыхание микроорганизмов, типы дыхания и типы биологического окисления.**

Дыхание микробов – это биологические процессы, сопровождающиеся окислением или восстановлением преимущественно органических соединений с последующим выделением энергии в виде АТФ, необходимой микробам для физиологических нужд.

Процесс, при котором атом или молекула теряют электрон, называется окислением, а обратный процесс – восстановлением. Перенос электрона всегда сопровождается выделением энергии, которая накапливается в виде АТФ и расходуется микробной клеткой по мере надобности.

С биохимической точки зрения окисление биологического субстрата микроорганизмами может быть по типу прямого и непрямого окислений (дегидрирования). Прямое окисление осуществляется с помощью оксидаз путём окисления вещества кислородом воздуха. Прямое окисление регистрируется у большинства сапрофитных микроорганизмов. Например, *B. metanicum*, окисляя метан получают энергию по следующей схеме:



У некоторых микробов, поглощающих кислород, реакции окисления не доходят до конечного продукта, т.е. образования CO<sub>2</sub>. Например, дыхание уксуснокислых бактерий, у них конечным продуктом окисления этил. спирта является не CO<sub>2</sub>, а уксусная кислота: CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH + O<sub>2</sub> = CH<sub>3</sub>COOH + H<sub>2</sub>O

Непрямое окисление путём дегидрирования сопровождается переносом двух протонов (H<sup>+</sup>). Например, образование ацетальдегида из этил спирта: C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH – 2H C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>) + 2H (акцептор) + 2e.

Дегидрогеназы бактерий переносят водород на один из двух коферментов (НАД<sup>+</sup> или НАДФ<sup>+</sup>). НАД·Н (+Н<sup>+</sup>) переносит Н на предшественники брожения или в дыхательную цепь.

По типу дыхания микроорганизмы делятся на аэробов и анаэробов.

Аэробные микроорганизмы – для роста и размножения используют атмосферный кислород, а анаэробные микроорганизмы растут без доступа кислорода. Выделяют 4 группы микроорганизмов:

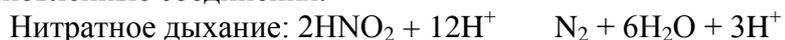
1. Облигатные (обязательные) аэробы – микроорганизмы, для роста которых необходим кислород. Они развиваются при наличии в атмосфере 21 % кислорода, растут на поверхности жидких или плотных питательных сред, содержат ферменты, с помощью которых осуществляется перенос  $H^+$  от окисляемого субстрата к  $O_2$  воздуха. К ним относят большинство бактерий. Например, уксуснокислые бактерии, возбудители туберкулёза, сибирск. язвы.
2. Микроаэрофильные – это микроорганизмы, способные к росту при низкой (~ 2%) концентрации кислорода в окружающей атмосфере (например, объёмная доля кислорода в атмосфере обычно составляет 21 %). Высокая концентрация кислорода, хотя не убивает их, но задерживает их рост. К микроаэрофилам относятся актиномицеты, лептоспириты.
3. Факультативные анаэробы – это микроорганизмы, способные расти как при доступе кислорода, так и при его отсутствии. Они имеют 2 набора ферментов. К ним относятся энтеробактерии, большинство патогенных и сапрофитных микробов.
4. Облигатные анаэробы – это микроорганизмы, которые развиваются при полном отсутствии кислорода. Для них кислород является ядом. К ним относятся маслянокислые бактерии, возбудители столбняка, газовой гангрены, ботулизма.

**9.3. Аэробное дыхание.** Аэробные бактерии в процессе дыхания окисляют различные органические вещества (углеводы, белки, жиры, спирты, органические кислоты и др.). Аэробное дыхание состоит из 2 фаз. Первая фаза включает в себя серию реакций, благодаря которым органический субстрат окисляется до  $CO_2$ , а освобождающиеся атомы водорода перемещаются к акцепторам. В этой фазе совершается цикл реакций, известный под названием цикла Кребса, или цикла трикарбоновых кислот (ЦТК). При участии трёх дегидрогеназ водород переносится на кофермент НАДФ, а затем в дыхательную цепь. Отнимая кислород от окисляемого субстрата, они переходят в восстановленную форму ( $НАД \cdot H_2$  и  $НАДФ \cdot H_2$ ) и переносят водород на другой акцептор (в дыхательную цепь или на промежуточные продукты брожения).

Вторая фаза представляет собой окисление освобождающихся атомов водорода кислородом с образованием АТФ. Для этого у аэробных бактерий имеются цитохромоксидаза система геминных ферментов – цитохромов. Цитохромоксидаза катализирует конечное связывание водорода с атмосферным кислородом вне клетки. Обе фазы совместно ведут к окислению субстрата до  $CO_2$  и  $H_2O$  и образованию биологически полезной энергии (в виде АТФ и других соединений).

Таким образом, дыхание – это процесс, при котором электроны переносятся от органических веществ на молекулярный кислород, то есть при дыхании роль акцептора электронов играет кислород.

**9.4. Анаэробное дыхание.** Осуществляется в отсутствие молекулярного кислорода. В этом случае микроорганизмы способны использовать для окисления веществ не молекулярный, а связанный кислород окисленных соединений, например солей азотной, серной кислот, углекислоты, которые превращаются в более восстановленные соединения.



Следовательно, анаэробные микроорганизмы в качестве конечного акцептора электронов используют не кислород, а неорганические соединения, такие как нитраты, сульфаты, карбонаты. Различия между аэробным и анаэробным дыханием заключается в природе конечного акцептора электронов. При анаэробном дыхании выход энергии только на 10 % ниже, чем при аэробном. Свойство анаэробов переносить электроны на нитраты, сульфаты и карбонаты обеспечивает в достаточной степени полное окисление

органического или неорганического вещества без использования молекулярного кислорода и обуславливает получение большего количества энергии, чем при брожении. Микроорганизмы, для которых характерно анаэробное дыхание, имеют набор ферментов цепи переноса электронов, но цитохромоксидаза заменяется нитратредуктазой (в случае использования нитратов) или аденилсульфатредуктазой (в случае использования сульфатов).

Микроорганизмы, способные осуществлять нитратное дыхание: факультативные анаэробы из р. *Pseudomonas* и р. *Bacillus*, сульфатное дыхание: р. *Desulfovibrio*, *Desulfomonas* и *Desulfotomaculum*.

### Вопросы самоконтроля

1. Обмен веществ у бактерий. Конструктивный и энергетический метаболизм.
2. Типы дыхания микроорганизмов. Классификация по способу дыхания.
3. Биологическая сущность процессов дыхания.
4. Аэробное дыхание
5. Анаэробное дыхание.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

#### Основная

1. **Ассонов, Н.Р.** Микробиология / Н.Р. Ассонов. – М.: Колос, 2011. – 352 с.
2. **Гусев, М.В.** Микробиология / М.В. Гусев, Л.А. Минаева. – М.: Академия, 2008. – 464 с.
3. **Емцев, В.Т., Мишустин, Е.Н.** Микробиология / В.Т. Емцев, Е.Н. Мишустин. – М.: Дрофа, 2005. – 446 с.

#### Дополнительная

1. **Громов, Б.В.** Строение бактерий / Б.В. Громов. – Л.: Изд-во ЛГУ, 1985. – 189 с.
2. **Готшлак, Г.** Метаболизм бактерий / Г. Готшлак. – М.: Мир, 1982. – 310 с.
3. **Шлегель, Г.** Общая микробиология / Г. Шлегель. – М.: Мир, 1987, – 568 с.
4. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии / А.А. Воробьев, [и др.]. – М.: Мастерство; Высшая школа, 2001. – 224 с.

## Лекция № 10 БРОЖЕНИЕ

В отличие от дыхания брожение – процесс, при котором отщепляемые от органического вещества электроны передаются на органические же соединения, то есть при брожении роль акцептора электронов играет обычно какое-нибудь органическое соединение, образующееся в ходе этого же процесса. Чаще всего в процессах брожения микроорганизмы используют углеводы, а также некоторые другие вещества (органические кислоты, аминокислоты, пурины и пиримидины).

Процесс брожения осуществляется облигатными анаэробами и может осуществляться только в строго анаэробных условиях. Как установил в 1860 г. Л. Пастер, брожение – это жизнь без кислорода.

В настоящее время известно много типов брожения. Каждый тип вызывается особой группой микроорганизмов и даёт специфические конечные продукты. Многие виды брожения имеют значения в народном хозяйстве. Рассмотрим некоторые типы брожения.

### 10.1. Спиртовое брожение.

Этиловый спирт (этанол) – один из широко распространённых продуктов сбраживания сахаров микроорганизмами. При спиртовом брожении микроорганизмы превращают углеводы с образованием этилового спирта как основного продукта. Ещё Гей-Люссак (1815 г.) дал уравнение, описывающее превращение глюкозы в этанол в той форме, как это принято и теперь:  $C_6H_{12}O_6 = 2CH_3CH_2OH + 2CO_2$

Сбраживание глюкозы до этанола и  $CO_2$  дрожжами *Saccharomyces cerevisiae* осуществляется по фруктозобифосфатному пути. Превращение пирувата в этанол происходит в два этапа. Сначала пируват декарбоксилируется пируватдегидрогеназой при участии тиаминпирофосфата до ацетальдегида, а затем ацетальдегид восстанавливается алкогольдегидрогеназой в этанол при участии НАДН<sub>2</sub>.

В 1896- 1897 гг. Бухнер и Хан обнаружили, что если к соку, полученному при растирании прессованных пивных дрожжей с кварцевым песком или керамзитом, добавить сахар, то начинается брожение с образованием пены. Так впервые сложный биохимический процесс удалось получить вне клетки.

Сбраживание дрожжами глюкозы – анаэробный процесс, хотя дрожжи – аэробные организмы. В анаэробных условиях брожение идёт очень интенсивно, но роста дрожжей почти не происходит. При аэрации брожение ослабевает, уступая место дыханию. У некоторых дрожжей можно почти полностью подавить брожение усиленной аэрацией (эффект Пастера). Пастер открыл этот эффект более ста лет тому назад, исследуя процессы брожения при изготовлении вина.

К возбудителям спиртового брожения относятся дрожжи из рода *Saccharomyces* (*S. cerevisiae*, *S. vini*). Дрожжи делят на дрожжи низового и верхового брожения. Дрожжи верхового брожения *Saccharomyces cerevisiae* используют для брожения, протекающего при T 18-30 °C. Они находятся в верхних слоях суслу, куда поднимаются обильно выделяющейся углекислотой и пеной. Эти дрожжи используют в спиртовой промышленности, хлебопечении. Низовые дрожжи применяют для брожения при пониженной T 4-10 °C, при этом брожение совершается спокойно и дрожжи остаются на дне сосуда. Низовые дрожжи используют в пивоварении (рассы *S. cerevisiae*) и виноделии *Saccharomyces vini*.

Пекарские дрожжи (*S. cerevisiae*) должны поднимать тесто в результате образования  $CO_2$ , т.е. осуществлять интенсивное брожение. Их выращивают в чанах при сильной аэрации. В качестве побочного продукта всегда выделяется этанол.

Пивные дрожжи по большей части относятся к низовым расам (мюнхенское, пильзенское пиво), реже к верховым (светлое пиво, эль, портер).

**10.2. Молочнокислое брожение.** При молочнокислом брожении происходит распад глюкозы до молочной кислотой. Все бактерии относящиеся к группе молочнокислых грамположительные, не образуют спора (искл. *Sporolacobacillus inulinus*) и в подавляющем большинстве неподвижны, используют в качестве источников углеводов и выделяют молочную кислоту, факультативные анаэробы, нуждаются в ростовых веществах (витаминах (лактофлавине, тиамине, пантотеновой, никотиновой и фолиевой кислотах), аминокислотах, пуринах и пиримидинах). Культивируют этих бактерий на сложных средах, содержащих дрожжевой экстракт, томатный сок, молочную сыворотку, кровь. Эти бактерии встречаются в молоке и молочных продуктах (*Lactobacillus lactis*, *L.bulgaricus*, *L.casei*, *L.brevis*, *Streptococcus lactis*, *St.diacetilactis*), на растениях и на разлагающихся растительных остатках (*L.deldruckii*, *L.brevis*, *St.Lactis*, *Leuconostoc mesenteroides*), в кишечнике и на слизистых оболочках человека и животных (*L.acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *St.faecalis* (обитатель кишечника человека), *St.bovis* (обитает в пищеварительном тракте жвачных), *St.pyogenes*, *St.pneumoniae*).

В зависимости от того, какие продукты образуются при сбраживании глюкозы молочнокислые бактерии делятся на 2 группы:

1) гомоферментативные, при котором из глюкозы образуется только молочная кислота:  $C_6H_{12}O_6 == 2CH_3CHONCOOH$ ; К гомоферментативным молочнокислым бактериям относят бактерии *Streptococcus lactis*, *S.cremoris*, *St.faecalis*, *St.pyogenes*, *St.thermophilus*, *Lactobacillus lactis*, *L.bulgaricus*, *L.deldruckii*, *L.casei*, *Sporolacobacillus inulinus* и др.

2) гетероферментативные молочнокислое брожение, когда из глюкозы, кроме молочной кислоты, получается этиловый спирт, уксусная кислота, углекислый газ. К гетероферментативным молочнокислым бактериям относят *Lactobacillus brevis*, *L.cremoris*, *Bifidobacterium bifidum*, *Leuconostoc cremoris*, *Leuc. mesenteroides*

Молочнокислые бактерии используют при изготовлении кисломолочных продуктов, квашении овощей, силосовании кормов.

*Простокваша, сметана, творог* в их состав входят мезофильные гомоферментативные молочно-кислые стрептококки (*Streptococcus lactis*, *Str.cremoris*) и ароматобразующие стрептококки (*Str.diacetilactis*).

*Йогурт* – для изготовления используют симбиотическую закваску, содержащую термофильный молочно-кислый стрептококк (*Str.thermophilus*) и болгарскую палочку (*Lactobacillus acidophilus*). Болгарская палочка обогащает аромат простокваши, в термофильный стрептококк смягчает её вкус. Болгарская палочка вырабатывает антибиотические вещества, подавляющие гнилостную микрофлору кишечника.

*Ацидофильная простокваша* – продукт, продукт близкий к йогурту, но в состав закваски кроме термофильного молочно-кислого стрептококка входит ацидофильная палочка (*Lactobacillus acidophilus*). Для получения необходимой консистенции продукта используют слизеобразующие и не образующие слизи расы ацидофильной палочки. *Ацидофильное молоко и ацидофильную пасту* готовят на закваске ацидофильной палочки в определённом соотношении слизистых и неслизистых рас. *Ацидофилин* – готовят на смеси трёх заквасок: ацидофильной палочки, закваски для творога и кефирной закваски, в соотношении 1:1:1. Ацидофильные продукты имеют лечебное значение. Ацидофильная палочка вырабатывает вещества, подавляющие развитие многих гнилостных бактерий и возбудителей кишечных инфекций. *Кефир* – при изготовлении используют симбиотическую кефирную закваску – пастеризованное молоко, сквашенное так называемым кефирным грибом. Кефирный грибок внешне похож на миниатюрную головку цветной капусты, размер его от 1 – 2 мм до 3 – 6 см. При микроскопировании выявляется тесное переплетение палочковидных бактерий (по-видимому гетероферментативных молочно-кислых), которые образуют преимущественно мезофильные и термофильные молочно-кислые бактерии, уксусно-кислые и дрожжи.

Кефир является продуктом комбинированного брожения: молочно-кислого и спиртового. Содержание спирта 0,2 – 0,6 %, образующийся углекислый газ придаёт продукту освежающий вкус.

*Кумыс* – готовят из кобыльего молока, приготовление основано на молочно-кислом и спиртовом брожении. Состав закваски: болгарская и ацидофильная пал., дрожжи. Спиртовое брож. протекает активно; количество спирта 2-2,5%

*Ряженку* готовят из смеси молока и сливок, которую перед заквашиванием нагревают до 95 °С в течении 2-3 ч, в результате чего она приобретает цвет и вкус топленого молока. Используются закваски термофильного молочно-кислого стрептококка и в не большом количестве болгарскую палочку.

Имеются и другие национальные кисло-молочные продукты (*чал, мацони, курунга, айран*), которые изготавливают на так называемых естественных заквасках – молоко заквашивают сгустком предыдущей выработки.

*Маргарин молочный* имеет микрофлору двух типов – заквасочную, применяемую для сквашивания молока, и постороннюю. Заквасочная микрофлора представлена гомо- и гетероферментативными молочно-кислыми стрептококками (*Str.lactis, Str.cremoris, Str.diacetilactis*).

*Сыр*. При созревании твёрдых сыров с низкой температурой второго нагревания (типа Голландского) основное значение имеют мезофильные молочно-кислые стрептококки (*Str.lactis, Str.cremoris, Str.diacetilactis*), а также незаквасочные стрептококки (*Str.bovis*), представители остаточной микрофлоры пастеризованного молока. Кроме того, в процессе участвуют мезофильные молочно-кислые палочки (*L.casei, L.brevis*), попавшие в продукт в процессе его выработки.

При выработке сыров с высокой температурой второго нагревания (типа Швейцарского) используют кроме закваски из мезофильных стрептококков, закваску из термофильных молочно-кислых бактерий (сырная палочка) – *L.helveticus* и *L.thermophilus*, которым принадлежит ведущая роль в моочно-кислом процессе. К концу созревания сыра молочно-кислые бактерии начинают постепенно отмирать, причём наиболее быстро стрептококки.

**10.3. Пропионовокислое брожение.** Пропионовокислое брожение осуществляется бактериями рода *Propionibacterium*. Они обитают в рубце и кишечнике жвачных животных (коров и овец). Они участвуют в образовании жиров и кислот. Благодаря им образующаяся в рубце молочная кислота превращается в пропионовую. Эти бактерии участвуют в созревании сыров, образуемая ими углекислота обуславливает появление в сыре глазков. Для получения культуры этих бактерий среду с лактатом и дрожжевым экстрактом инокулируют швейцарским сыром, куда они попадают с сычужным ферментом. В сыр они попадают в качестве продуктов брожения пропионовокислые бактерии могут продуцировать пропионовокислую и уксусную кислоты, и в меньшем количестве изовалерьяновую, муравьиную, янтарную, молочную кислоты и CO<sub>2</sub>.

**10.4. Муравьинокислое брожение или брожение смешанного типа.** Некоторые микроорганизмы, образующиеся при брожении кислоты, объединяют в одну физиологическую группу на том основании, что продуктом брожения является у них муравьиная кислота. Наряду с муравьиной кислотой эти бактерии выделяют и другие кислоты. Это бактерии сем. *Enterobacteriaceae*. Это грамотрицательные, подвижные, не образующие спор палочки, факультативные анаэробы. *Escherichia coli, Proteus vulgaris, Enterobacter aerogenes, Serratia marcescens* (чудесная палочка), *Erwinia, Klebsiella pneumoniae, Salmonella typhimurium, S.typhi*.

**10.5. Маслянокислое брожение.** Маслянокислое брожение вызывается бактериями из рода *Clostridium*. Это грамположительные, образующие споры, подвижные, анаэробные бактерии, которые были открыты Л. Пастером в 1861 г. Он обнаружил, что некоторые представители этого рода сбраживают углеводы с

образованием масляной кислоты. Источником углерода служат моно- и дисахариды, некоторые полисахариды (декстрин, крахмал), молочная кислота, пировиноградная кислота, маннит, глицерин и другие. Род *Clostridium* имеет патогенные и сапрофитные формы. К сапрофитным маслянокислым бактериям относятся *Cl.pasteurianum*, *Cl.butyrinum* (типичный представитель маслянокислых бактерий); к патогенным – *Cl.botulinum* (возбудитель ботулизма), *Cl.tetani* (возбудитель столбняка), *Cl.perfringens*. Маслянокислое брожение иногда бывает нежелательным: например, в заквашенных кормах белковая часть корма разлагается, а накопившаяся масляная кислота придаёт ему неприятный запах, наблюдается прогоркание растительных масел и животных жиров. Вместе с тем масляную кислоту требуется для промышленных целей. Её получают на заводах с помощью чистой культуры маслянокислых бактерий.

**10.6. Ацетобутиловое брожение.** Л. Пастер в 1862 г. установил, что в процессе маслянокислого брожения образуется бутиловый спирт, позже был обнаружен этиловый спирт и ацетон. Возбудитель этого брожения – *Clostridium acetobutylicum*. Этот вид брожения широко используют в промышленном производстве ацетона и бутилового спирта из кукурузной муки или другого крахмалистого сырья.

**10.7. Уксуснокислое брожения.** При уксуснокислом брожении этиловый спирт окисляется до уксусной кислоты под влиянием уксуснокислых бактерий, относящихся к родам *Glucanobacter* и *Acetobacter*. Это брожение открыто Л. Пастером в 1868 г. Типичные представители: строгие аэробы *Acetobacter aceti*, *A.pasreianum*. Уксуснокислые бактерии используют для производства пищевого уксуса из вина (медленный способ, уксус высокого качества) и спирта (быстрый способ). Процесс внешне напоминает обычное брожение, но это типичное окисление в аэробных условиях, т.к. уксусная кислота может и далее окисляться до CO<sub>2</sub> и воды, в то время как продукты истинного брожения не подвергаются дальнейшему расщеплению.

### Вопросы для самоконтроля

1. Химизм и возбудители спиртового брожения.
2. Химизм и возбудители гомоферментативного и гетероферментативного молочнокислого брожения.
3. Химизм, возбудители ацетобутилового брожения.
4. Химизм и возбудители пропионовокислого брожения.
5. Химизм и возбудители маслянокислого брожения.
6. Химизм и возбудители уксуснокислого брожения.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

#### Основная

1. **Ассонов, Н.Р.** Микробиология / Н.Р. Ассонов. – М.: Колос, 2011. – 352 с.
2. **Гусев, М.В.** Микробиология / М.В. Гусев, Л.А. Минаева. – М.: Академия, 2008. – 464 с.
3. **Емцев, В.Т.** Микробиология / В.Т. Емцев, Е.Н. Мишустин. – М.: Дрофа, 2005. – 446 с.
4. **Неверова, О.А.** Пищевая биотехнология продуктов из сырья растительного происхождения. / О.А. Неверова, Г.А. Гореликова, В.М. Поздняковский. – Новосибирск, Сибирское университетское издательство, 2007. – 415 с.

#### Дополнительная

1. **Громов, Б.В.** Строение бактерий / Б.В. Громов. – Л.: Изд-во ЛГУ, 1985. – 189 с.
2. **Готшлак, Г.** Метаболизм бактерий / Г. Готшлак. – М.: Мир, 1982. – 310 с.
3. **Шлегель, Г.** Общая микробиология / Г. Шлегель. – М.: Мир, 1987, – 568 с.
4. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии / А.А. Воробьёв, [и др.]. – М.: Мастерство; Высшая школа, 2001. – 224 с.
5. **Глик, Б.** Молекулярная биотехнология. Принципы применения. / Б. Глик, Д. Пастернак. – М.: Мир, 2002. – 589 с.

**ГЕНЕТИКА МИКРООРАГНИЗМОВ.****11.1 Строение хромосомных и внехромосомных структур бактерий.**

Аналог ядра прокариот представлен нуклеоидом, лишенным оболочки и включающем в себя почти всю ДНК бактерии. Бактериальная хромосома состоит из одной двунитевой молекулы ДНК кольцевой формы. Молекула ДНК построена из двух полинуклеотидных цепочек. Каждый нуклеотид состоит из азотистого основания, сахара дезоксирибозы и фосфатной группы. Азотистые основания представлены пуринами (аденин, гуанин) и пиримидинами (тимин, цитозин). Каждый нуклеотид обладает полярностью. У него имеются дезоксирибозный 3' -конец и фосфатный 5' -конец. Нуклеотиды соединяются в полинуклеотидную цепочку фосфодиэфирными связями между 5' -концом одного нуклеотида и 3' -концом другого. Соединение между двумя цепочками обеспечивается водородными связями комплементарных азотистых оснований: аденина с тимином, гуанина с цитозином. Нуклеотидные цепи антипараллельны: на каждом конце линейной молекулы ДНК расположены 5' -конец одной цепи и 3' -конец другой цепи. Наследственная информация у бактерий хранится в форме последовательности нуклеотидов ДНК, которая определяет последовательность аминокислотных остатков в молекуле белка. Каждому белку соответствует свой ген, т.е., дискретный участок на ДНК, отличающийся числом и специфичностью последовательности нуклеотидов. Совокупность всех генов называется геномом. Внешнее проявление генома называется фенотипом. Размеры бактериальной хромосомы у различных представителей царства *Prokaryotae* варьируют от  $3 \cdot 10^8$  до  $2,5 \cdot 10^9$  Д. Бактериальная клетка гаплоидна, а удвоение хромосомы всегда сопровождается ее делением.

Генетическая информация в бактериях может содержаться во внеядерных (внехромосомных) молекулах ДНК, представленных плазмидами, транспозонами и инсерционными (вставочными) последовательностями. Они не являются жизненно необходимыми, так как не кодируют информацию о синтезе ферментов, участвующих в метаболизме бактериальной клетки.

Плазмиды бактерий представляют собой двунитевые молекулы ДНК размером от  $10^6$  до  $10^8$  Д, несущие от 40 до 50 генов. Количество плазмид в бактериальной клетке может быть от 1 до 200.

Подвижные генетические элементы входят в состав бактериального генома, бактериальной хромосомы и плазмид. К ним относятся вставочные последовательности в ДНК и транспозоны. Вставочные последовательности (Is -элементы) представляют собой участки ДНК, способные перемещаться из одного места локализации в другое, и содержат только гены, необходимые для перемещения. Is -последовательности осуществляют координацию взаимодействий плазмид, умеренных фагов, транспозонов и нуклеоида для обеспечения репродукции; регулируют активность генов бактериальной клетки.

Транспозоны (Tn) - это сегменты ДНК, состоящие из вставочных последовательностей и структурных генов, обеспечивающих синтез молекул со специфическими биологическими свойствами (токсичность, устойчивость к антибиотикам и др.). Транспозоны не способны к самостоятельной репликации и размножаются только в составе бактериальной хромосомы.

**11.2 Репликация бактериальной ДНК**

Воспроизведение генетического материала бактерий осуществляется в процессе репликации, которая у бактерий протекает по полуконсервативному механизму. Это означает, что каждая из двух цепочек ДНК хромосомы или плазмиды служит матрицей для синтеза комплементарной дочерней цепочки ДНК. В процессе репликации участвует комплекс ферментов. Репликация начинается с момента расплетения двунитевой

структуры ДНК, которое осуществляется ферментом ДНК-гидролазой. При этом формируются две репликативные вилки, которые двигаются в противоположных направлениях, пока не встретятся. Формирование новой дочерней цепи осуществляется ферментом ДНК-полимеразой. Особенностью функционирования ДНК-полимеразы является ее способность присоединять комплементарные матрице нуклеотиды к свободному 3' -концу растущей цепочки. Поэтому для осуществления реакции полимеризации нуклеотидов на матрице родительской цепочки ДНК-полимеразе требуется затравка, которая называется праймером (от англ. primer - запал). Праймер представляет собой короткую нуклеотидную цепочку, комплементарную матричной цепочки со свободным 3' -концом.

Две цепи двойной спирали ДНК комплементарны друг другу. На каждой цепи из структурных элементов ДНК - дезоксирибонуклеозидтрифосфатов - синтезируется новая цепь; при этом с каждым из оснований спаривается комплементарное ему основание, так что каждая из двух новых цепей будет комплементарна родительской цепи. Обе новые двойные цепи состоят из одной родительской и одной вновь синтезированной цепи.

Биосинтез белков происходит на рибосомах, которые непосредственно с ДНК не соприкасаются. Передачу записанной в ДНК информации к местам синтеза белка осуществляет матричная или информационная РНК (мРНК). Она состоит из одной цепи и отличается от одиночной цепи ДНК тем, что тимин (Т) в РНК заменен урацилом (U). мРНК синтезируется на одной из цепей ДНК, причем механизм этого процесса сходен с механизмом репликации ДНК. Образование мРНК начинается на 5' -конце, и по последовательности оснований ее цепь комплементарна цепи ДНК. Этот процесс называется транскрипцией, а перевод нуклеотидной последовательности в последовательность аминокислот - трансляцией.

Каждый ген представлен определенным участком молекулы ДНК. Специфическая информация, содержащаяся в гене, определяется последовательностью оснований в цепи ДНК. Специфичность ферментных белков, синтез которых контролируют гены, определяется последовательностью аминокислот в полипептидных цепях. Эта же последовательность определяет и пространственную структуру белка - конформацию.

Так растет полипептидная цепь по мере продвижения рибосомы вдоль мРНК. Одновременно происходит закручивание этой цепи и свертывание ее в клубок, определяемое последовательностью аминокислот и природой их боковых цепей (гидрофобные и гидрофильные группы), и в результате возникает структура, обуславливающая специфические свойства и функцию данного белка. К мРНК обычно прикрепляется несколько рибосом, так что на одной и той же матрице одновременно синтезируется несколько полипептидных цепей. На конце мРНК находится кодон, от которого зависит отделение сформированной полипептидной цепи от рибосомы.

### **11. 3 Перенос генетического материала бактерий**

Обмен генетическим материалом у бактерий осуществляется путем генетических рекомбинаций. Под генетической рекомбинацией подразумевают взаимодействие между двумя геномами, которое приводит к образованию рекомбинаций ДНК и формированию дочернего генома, сочетающего гены обоих родителей. Особенности рекомбинаций у бактерий определяются отсутствием истинного полового процесса и мейоза у прокариот и гаплоидным набором генов. В процессе рекомбинации бактерии условно делятся на клетки-доноры, которые передают генетический материал, и клетки-реципиенты, которые этот материал воспринимают. В клетку-реципиент проникает не вся, а только часть хромосомы клетки-донора, т.е. один или несколько генов. Образуется только один рекомбинант, генотип которого представлен в основном генотипом реципиента с включением фрагментов хромосомы донора. Рекомбинация может быть гомологичной, при которой в процессе разрыва и воссоединения ДНК происходит обмен между участками ДНК, обладающими высокой степенью гомологии. Встречается также сайт-специфическая рекомбинация, которая

происходит только в определенных участках (сайтах) генома и не требует высокой степени гомологии ДНК, например включение плазмиды в хромосому бактерии. Передача генетического материала между бактериями осуществляется 3-мя механизмами: конъюгацией, трансдукцией и трансформацией

**Конъюгация** - это перенос генетического материала путем прямого контакта между двумя клетками. Необходимым условием конъюгации является наличие в клетке-доноре трансмиссивной плазмиды. Трансмиссивные плазмиды кодируют половые пили, образующие конъюгационную трубочку между клеткой-донором и клеткой-реципиентом, по которой плазмидная ДНК передается из клетки-донора в клетку-реципиент. В результате такого переноса клетка-реципиент получает донорские свойства. Интегративной трансмиссивной плазмидой является F -фактор. Клетки-доноры, обладающие F -фактором, обозначаются как F + -клетки, а клетки-реципиенты, не имеющие F -фактора - F - -клетки. Если F -фактор встраивается в хромосому клетки-донора и начинает функционировать в виде единого с хромосомой трансмиссивного репликаона, то хромосома донора приобретает способность передаваться в клетку-реципиент. Донорские клетки, имеющие встроенный в хромосому F -фактор, называются Hfr -клетками . Хромосомная ДНК реплицируется, одна цепь копии хромосомы переносится в реципиентную F - -клетку, тогда как другая остается в Hfr + -клетке, т.е. донор сохраняет свое генетическое постоянство.

Передача генетического материала при конъюгации начинается с расщепления ДНК в районе локализации F -фактора. Одна нить донорской ДНК передается через конъюгационный мостик в клетку-реципиент. Процесс сопровождается достраиванием комплементарной нити до образования двунитевой структуры. Переданная в реципиентную клетку и достроенная до двунитевой структуры, нить ДНК рекомбинирует с гомологичным участком реципиентной ДНК с образованием стабильной генетической структуры.

Биологическая значимость конъюгации хорошо видна на примере распространения резистентности бактерий к антибиотикам. Устойчивость к антибиотикам бактерия может получить в результате мутации, что происходит 1 раз на каждые  $10^6$  клеточных делений. Однако, однажды изменившись, генетическая информация может быстро распространяться среди сходных бактерий посредством конъюгации, поскольку каждая третья из близкородственных бактерий способна именно к этому типу генетического переноса.

**Трансформация** - передача генетической информации через выделенную из клетки-донора ДНК. Процесс трансформации может произвольно происходить в природе у некоторых видов бактерий, чаще грамположительных, когда ДНК, выделенная из погибших клеток, захватывается реципиентными клетками. Как правило, любая чужеродная ДНК, попадающая в бактериальную клетку, расщепляется рестрикционными эндонуклеазами; но при некоторых условиях такая ДНК может быть интегрирована в геном бактерии. По происхождению ДНК может быть плазмидной либо хромосомной и нести гены, трансформирующие реципиента. Подобным путем процессы трансформации могут распространять гены, кодирующие факторы вирулентности, среди бактериальных популяций; однако в обмене генетической информацией трансформация играет незначительную роль.

Трансформация служит хорошим инструментом для картирования хромосом, поскольку трансформированные клетки включают различные фрагменты ДНК. Определение частоты одновременного приобретения двух заданных характеристик (чем ближе расположены гены, тем более вероятно, что они оба включатся в один и тот же участок ДНК) дает информацию о взаиморасположении соответствующих генов в хромосоме. Перенос экстрагированной ДНК является основным методом генной инженерии, используемым при конструировании рекомбинантных штаммов с заданным геномом.

**Трансдукция** - передача бактериальной ДНК посредством бактериофага. В процессе репликации фага внутри бактерий фрагмент бактериальной ДНК проникает в фаговую частицу и переносится вместе с ней в бактерию-реципиент. При этом фаговые частицы как правило дефектны, они теряют способность к репродукции. Так как трансдуцируются лишь небольшие фрагменты ДНК, вероятность рекомбинации, затрагивающей какой-то определенный признак, очень мала: она составляет от  $10^{-6}$  до  $10^{-8}$ . Существуют три типа трансдукции: неспецифическая (общая), специфическая и abortивная.

Общая (неспецифическая) трансдукция - перенос бактериофагом фрагмента любой части бактериальной хромосомы. В клетке, инфицированной бактериофагом, в ходе сборки дочерней популяции в головки некоторых фагов может проникнуть фрагмент бактериальной ДНК или плазмиды либо вместе с вирусной ДНК, либо вместо нее. Этот процесс происходит вследствие того, что бактериальная ДНК фрагментируется после фаговой инфекции и кусочек бактериальной ДНК того же размера, что и фаговая ДНК, проникает в вирусную частицу с частотой приблизительно 1 на 1000 фаговых частиц. При такой форме трансдукции в клетки-реципиенты могут быть внесены практически любые гены. Феномен неспецифической трансдукции может быть использован для картирования бактериальной хромосомы.

Специфическая трансдукция наблюдается в том случае, когда фаговая ДНК интегрирует в бактерию с образованием профага. При исключении ДНК фага из бактериальной хромосомы в результате случайного процесса захватывается прилегающий к месту включения фаговой ДНК фрагмент бактериальной хромосомы. Так как большинство умеренных фагов интегрируют в бактериальную ДНК в специфических участках, для таких бактериофагов характерен перенос в клетку-реципиент определенного участка бактериальной ДНК донора. Специфическая трансдукция может служить механизмом переноса вирулентных генов среди бактерий при условии, что эти гены локализованы в непосредственной близости от мест интеграции профага.

Наиболее характерным примером служит трансдукция, осуществляемая фагом  $\lambda$ . Обычно он трансдуцирует определенные гены: *gal* (кодирует синтез галактозы) и *bio* (кодирует синтез биотина). При переходе в состояние профага фаг  $\lambda$  включает в определенный участок хромосомы бактерии-хозяина - между генами *gal* и *bio*. Отделение фаговой ДНК от бактериальной хромосомы может происходить неточно и какой-то фрагмент ее останется в хромосоме, а близко расположенные гены будут захвачены фаговой ДНК. В случае заражения трансдуцирующим фагом клеток, дефектных по определенному гену, например *gal* -, может произойти рекомбинация с заменой собственного дефектного гена бактерии интактным трансдуцированным геном с образованием рекомбинанта (трансдуктанта) *gal* + .

Abortивная трансдукция. При abortивной трансдукции внесенный фрагмент ДНК донора не встраивается в хромосому реципиента, а остается в цитоплазме и там самостоятельно функционирует. Впоследствии он передается одной из дочерних клеток (т.е. наследуется однолинейно) и затем теряется в потомстве.

### **Вопросы для самоконтроля:**

1. Расскажите о строении бактериальной ДНК.
2. Опишите процессы биосинтеза белка.
3. Какие процессы лежат в основе переноса генетического материала у бактерий. Опишите их.

### **СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

*Основная*

1. **Ассонов, Н.Р.** Микробиология / Н.Р. Ассонов. – М.: Колос, 2011. – 352 с.
2. **Гусев, М.В.** Микробиология / М.В. Гусев, Л.А. Минаева. – М.: Академия, 2008. – 464 с.
3. **Емцев, В.Т.** Микробиология / В.Т. Емцев, Е.Н. Мишустин. – М.: Дрофа, 2005. – 446 с.

*Дополнительная*

1. **Громов, Б.В.** Строение бактерий / Б.В. Громов. – Л: Изд-во ЛГУ, 1985. – 189 с.
2. **Готшлак, Г.** Метаболизм бактерий / Г. Готшлак. – М.: Мир, 1982. – 310 с.
3. **Шлегель, Г.** Общая микробиология / Г. Шлегель. – М.: Мир, 1987, – 568 с.
4. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии / А.А. Воробьев, [и др.]. – М.: Мастерство; Высшая школа, 2001. – 224 с.
5. Глик, Б. Молекулярная биотехнология. Принципы применения. / Б. Глик, Д. Пастернак. – М.: Мир, 2002. – 589 с.

## Лекция № 12.

### РЕГУЛЯЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА БАКТЕРИЙ.

#### 12.1 Уровни регуляции

Поскольку основную функциональную нагрузку при взаимодействии любого организма с внешней средой несут белки (либо непосредственно, либо посредством своих ферментативных активностей), а информация о структуре и количестве белков кодируется генетическим аппаратом клетки, возможности для регуляции имеются на всем пути экспрессии кодируемой организмом информации.

Иными словами, регуляция возможна как на пути от ДНК к РНК (при транскрипции), так и от РНК к белку (при трансляции). В обоих случаях экономия ресурсов организма достигается за счет выключения очень энергоемких процессов биосинтеза макромолекул - белка либо РНК (и, следовательно, белка).

Кроме того, возможна также регуляция на уровне белков (как правило, аллостерических ферментов, меняющих свою активность при взаимодействии с низкомолекулярными веществами, напр., конечными продуктами какого-то биосинтетического пути). Здесь происходит экономия энергии при ингибировании энергоемких ферментативных реакций.

схема: уровни регуляции

I- дотранскрипционный (метилирование ДНК) - cell cycle; спирализация хроматина у эукариот; II – транскрипционный: а) инициация (промоторы+регуляторные белки), б) терминация (аттенуация и антiterминация); III – посттранскрипционный: а) стабильность мРНК (groS), б) инициация трансляции (cold shock); IV – посттрансляционный: регуляция метаболизма посредством белок-белковых взаимодействий и модификации белков; аллостерическая регуляция (хемотаксис).

#### 12.2 Оперонная организация бактериальных генов

Оперон представляет собой группу из двух или более структурных генов кодирующих тесно связанные между собой функционально белки, совместно транскрибируемых и находящихся под общим контролем. Такой контроль осуществляется продуктом регуляторного гена, действие которого осуществляется через оператор находящийся в непосредственной близости к промотору. Как промотор, так и оператор являются короткими последовательностями ДНК, предшествующими контролируемым структурным генам.

Рассмотрим структуру абстрактного оперона подробнее. Он состоит из следующих элементов:

1. Промотор - участок ДНК, с которым происходит связывание РНК-полимеразы и который определяет точку начала транскрипции.

2. Operator - участок связывания регуляторного белка. Располагается в непосредственной близости к промотору или же перекрывается с ним. Связывание регуляторного белка с оператором меняет частоту инициации транскрипции.

3. Структурные гены. Кодируют белки, непосредственно производящие фенотипический эффект.

4. Терминатор транскрипции. Здесь заканчивается синтез мРНК.

Не входит в оперон, но является необходимой частью регуляторной системы ген-регулятор, кодирующий регуляторный белок, связывающийся с оператором. Ген-регулятор может находиться рядом с контролируемым им опероном, но часто располагается совсем в другом участке хромосомы.

В регуляции участвуют, как правило, и низкомолекулярные вещества-эффекторы, являющиеся либо индукторами, либо корепрессорами структурных генов.

### **12.3 Регуляция выражения генетической информации у бактерий**

Бактериальная клетка способна запустить или прекратить синтез того или иного фермента в зависимости от присутствия соответствующего субстрата. Для этого бактериальные гены объединены в группы (кластеры) таким образом, что все ферменты, необходимые для осуществления определенного пути биосинтеза, детерминируются генами, сцепленными друг с другом.

Экспрессия генов у прокариот регулируется главным образом на уровне транскрипции. Роль сигнальных веществ для запуска транскрипции играют молекулы-эффекторы, представляющие собой низкомолекулярные соединения, которые являются либо субстратом для фермента, либо продуктом ферментативной деятельности соответственно. Индукция и репрессия представляют собой разные стороны одного и того же явления. Малые молекулы, индуцирующие образование ферментов, способных метаболизировать их, называются индукторами. Те же, которые предотвращают образование ферментов, способных синтезировать их, - корепрессорами.

Молекулы-эффекторы не могут вступать в прямое взаимодействие с ДНК, посредником для них служит специальный регуляторный белок. Регуляторный белок, который связывается с ДНК в отсутствие индуктора, называется репрессором.

За синтез регуляторных белков ответственны регуляторные гены. В присутствии белка-репрессора транскрипция блокирована; его удаление обуславливает доступ РНК-полимеразы к генам и запуск транскрипции. Прекращение синтеза фермента при помощи белка-репрессора получило название репрессии. Репрессия позволяет бактериальной клетке избежать перевода своих ресурсов на ненужную в данный момент синтетическую активность. Если индуктор присутствует в клетке в высокой концентрации, то в результате специфического присоединения к регуляторному белку он изменяет его конформацию и тем самым - его способность связываться с ДНК.

Контроль транскрипции достигается взаимодействием регуляторного белка с регуляторным сайтом, называемым оператором, который расположен между структурными генами и промотором (участком, распознаваемым ДНК-зависимой РНК-полимеразой). Промотор служит местом связывания РНК-полимеразы, и от него начинается транскрипция. Совокупность промотора, оператора и структурных генов образует оперон. Оперон является функциональной генетической единицей, регулирующей экспрессию одного или группы генов.

### **12.4 Регуляция на стадии терминации. Антитерминация**

Механизм регуляции на стадии терминации, называемый антитерминацией. В случае антитерминации регуляторную функцию выполняет один белок, называемый антитерминатором. Этот белок предотвращает терминацию транскрипции и позволяет считываться генам, расположенным за терминатором, выполняя, таким образом, активаторную функцию. Следует сразу заметить, что, в отличие от регуляторов транскрипции, действующих на стадии инициации, антитерминаторы не взаимодействуют с кофакторами, а либо являются активными постоянно, либо их активность модулируется фосфорилированием.

Классический пример антитерминации - регуляция жизненного цикла бактериофага  $\lambda$ . Геном фага лямбда имеет три группы генов: немедленно ранние (предранние), задержанно ранние и поздние.

Названия групп отражают последовательность "включения", то есть активации транскрипции, этих генов. Оба этапа активации зависят от действия белков-антитерминаторов pN и pQ. Давайте подробно рассмотрим действие первого из них.

Два предранних гена, N и  $\sigma$  транскрибируются "влево" и "вправо" от промоторов PL и PR. В самом начале литического цикла развития бактериофага транскрипция останавливается непосредственно после генов N и  $\sigma$  на  $\rho$ -зависимых терминаторах tL1 и tR1. Синтезирующийся в результате предранней транскрипции белок pN позволяет РНК-полимеразе преодолевать терминаторы tL1 и tR1 и считывать располагающиеся за ними задержанно ранние гены.

Действие фактора  $\rho$ . Терминация транскрипции при участии этого белка происходит, когда Rho, связанный с вновь образованным транскриптом, взаимодействует с РНК-полимеразой, остановившейся в области  $\rho$ -зависимого терминатора. ДНК в области таких терминаторов, как правило, не имеет особой структуры, богата основаниями С и бедна G, первичная последовательность различных терминаторов не имеет заметного сходства. Rho обладает РНК-зависимой АТФазной активностью и способствует отсоединению РНК-полимеразы через взаимодействие с белком NusG.

Действие белка pN высоко специфично в том плане, что он обеспечивает антитерминацию только на двух фаговых терминаторах, не влияя на терминацию транскрипции бактериальных генов. В то же время, если в фаговой ДНК точно в том же месте заменить фаговый терминатор любым  $\rho$ -зависимым бактериальным терминатором, антитерминация по-прежнему будет происходить. Следовательно, белок pN не опознает терминатор как таковой, и перед терминатором должен существовать какой-то сайт, узнаваемый этим белком. Такие участки называются nutL и nutR (от англ. N utilisation) для левого и правого терминатора соответственно. Эти участки располагаются на различных расстояниях от терминатора, в связи с чем возникает вопрос: "А как же они работают?". Когда pN узнает nut сайт, он должен подействовать на РНК-полимеразу таким образом, что она не сможет больше узнавать терминаторный сайт. Сравнение сайтов между собой показало, что они состоят из 17 н.п. палиндрома (который может образовать небольшую шпильку). Мутации в этом сайте, называемом также boxB, лишают pN способности предотвращать терминацию. Непосредственно перед этим сайтом располагается октамерная последовательность, называемая boxA, также участвующая в антитерминации.

Белок pN действует, скорее всего, опознавая шпильчатую структуру, формируемую BoxB областью, непосредственно после ее синтеза РНК-полимеразой, одновременно контактируя с субъединицами полимеразы. После такого узнавания антитерминатор остается в комплексе с РНК-полимеразой, фактически становясь ее субъединицей и обеспечивая изменение ее специфичности по отношению к терминаторам.

#### **Вопросы для самоконтроля:**

1. Какие уровни организации вы знаете?
2. Расскажите как устроен оперон бактериальной клетки?
3. Как происходит регуляция выражения генетической информации у бактерий

#### **СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

##### *Основная*

1. **Ассонов, Н.Р.** Микробиология / Н.Р. Ассонов. – М.: Колос, 2011. – 352 с.
3. **Гусев, М.В.** Микробиология / М.В. Гусев, Л.А. Минаева. – М.: Академия, 2008. – 464 с.
4. **Емцев, В.Т.** Микробиология / В.Т. Емцев, Е.Н. Мишустин. – М.: Дрофа, 2005. – 446 с.

##### *Дополнительная*

1. Глик, Б. Молекулярная биотехнология. Принципы применения. / Б. Глик, Д. Пастернак. – М.: Мир, 2002. – 589 с.
2. **Громов, Б.В.** Строение бактерий / Б.В. Громов. – Л.: Изд-во ЛГУ, 1985. – 189 с.
3. **Готшлак, Г.** Метаболизм бактерий / Г. Готшлак. – М.: Мир, 1982. – 310 с.
4. **Шлегель, Г.** Общая микробиология / Г. Шлегель. – М.: Мир, 1987, – 568 с.
5. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии / А.А. Воробьев, [и др.]. – М.: Мастерство; Высшая школа, 2001. – 224 с.

**РОЛЬ МИКРОБИОВ В КРУГОВОРОТЕ ВЕЩЕСТВ В ПРИРОДЕ**

Микроорганизмы играют главную роль в круговороте всех биологически важных в природе: С, N, S, P, Fe.

**13.1. Круговорот С**

В воздухе содержится 0,03% CO<sub>2</sub>. Такая концентрация углекислоты в атмосфере поддерживается относительно постоянной в результате равновесия между фотосинтезом и минерализацией. О значимости круговорота углерода в природе свидетельствует расчёт, который показывает, что весь CO<sub>2</sub> воздуха при отсутствии его пополнения за счёт минерализации был бы почти полностью исчерпан в результате фотосинтеза меньше, чем за 20 лет.

В круговороте углерода различают 2 процесса: 1) фиксация CO<sub>2</sub>;  
2) минерализация органических веществ с выделением CO<sub>2</sub>.

1. Первый процесс осуществляют высшие растения, водоросли и цианобактерии в процессе фотосинтеза. Он обеспечивает перевод окисленной формы углерода (CO<sub>2</sub>) в восстановленную (в этой форме углерод находится в органических веществах). Фиксация CO<sub>2</sub> также осуществляется в процессе хемосинтеза. К хемосинтетикам относятся нитрификаторы, серобактерии, тионовые бактерии, железобактерии. Одни из них облигатные хемолитоавтотрофы (используют С из CO<sub>2</sub>), другие – факультативные. Облигатные – используют С из CO<sub>2</sub>, а факультативные – в отсутствие органических соединений могут использовать С углекислого газа.

В анаэробных условиях при наличии водорода процесс фиксации CO<sub>2</sub> протекает с образованием метана CH<sub>4</sub>. Метан образуется за счёт восстановления CO<sub>2</sub>, 1/3 природного метана образуется из CO<sub>2</sub> атмосферы. Этот процесс осуществляют метанобразующие бактерии. Там, где есть метан (газ и нефтеместорождения, болота) помимо метанобразующих, будут присутствовать метаноокисляющие бактерии, которые окисляют CH<sub>4</sub> до CO<sub>2</sub>.

Помимо фиксации CO<sub>2</sub> микроорганизмы способны фиксировать и угарный газ (СО). В это процессе участвуют карбоксибактерии.

1. Второй процесс - минерализация органических веществ с выделением CO<sub>2</sub>. Минерализация всех поступающих веществ происходит в почве. Все поступающие в почву вещества по сложности микробного разложения делятся на 4 группы: 1) растворимые в воде соединения (сахара, органические кислоты, спирты); 2) слабо растворимые (гемицеллюлоза);

3) нерастворимые (крахмал, пектин, клетчатка, жиры, воск, смолы, углеводороды); 4) особо прочные соединения (легнин). 1) Разложение водорастворимых соединений идёт в результате окисления или сбраживания: спиртового (*Saccharomyces*), молочнокислого (*Lactobacillus*), маслянокислого, пропионовокислого, ацетобутилового (*Clostridium*), уксуснокислого (*Acetobacter*). 2) Разложение гемицеллюлозы осуществляется грибами, бактериями, актиномицетами, которые вырабатывают ксиланазу. 3) Крахмал разлагается грибами: мукором и аспергиллом. Пектин разлагается сначала в аэробных условиях грибами, затем в анаэробных условиях бактериями *Clostridium pectinovorum*. Клетчатка разлагается только микроорганизмами. Впервые возбудителя разложения клетчатки установил Омелянский. Ему удалось установить, что в разложении клетчатки участвует два вида бактерий 1) с образованием большого количества водорода *Bacillus cellulosaе hydrogenicus*, 2) с образованием метана *Bacillus cellulosaе methanicus*. Разложение клетчатки при высокой температуре 50-60 °С осуществляют бактерии *Cl. termocellum*, в горячих источниках – *Thermoanaerobacter ethanolicus*. В аэробных условиях клетчатку могут разлагать и другие микроорганизмы. В кислых лесных почвах в разложении будут участвовать грибы: *Trichoderma*, *Penicillium*, *Aspergillus*. В травянистых почвах: актиномицеты, бактерии р. *Sporocytophaga*, р. *Cytophaga*, миксобактерии: р. *Poliangium*, р.

*Sporangium*, р. *Archangium*. Также к разложению клетчатки способны р. *Cellvibrio*, р. *Achromobacter*, р. *Cellulomonas*, коринеформные бактерии. Жиры разлагаются *Proteus vulgaris*, *E.coli*, *B.micoides*, *B.megaterium*, *Staphylococcus*, *Strptococcus*. 4) Разложение легнина происходит в течении нескольких месяцев и лет. Это вещество способно к разрушению грибами, и бактериями: *Phlavobacterium*, *Agrobacter*, *Pseudomonas*.

### 13.2. Круговорот N.

N является одним из основных биогенных элементов, он входит в состав белковых молекул, молекулярный N присутствует в атмосфере 78%. Различают 4 этапа в круговороте N:

1) Фиксация атмосферного N; 2) аммонификация; 3) нитрификация; 4) денитрификация.

1) Столб воздуха над 1 Га почвы содержит до 80 тыс. т. N. Однако, ни растениям, ни животным он не доступен, т.к. растения могут использовать для питания N минеральных соединений, а животные – потребляют N в форме органических соединений. Только специфическая группа микроорганизмов обладает способностью фиксировать N.

Фиксация происходит в результате азотфиксации, в ней участвуют азотфиксирующие микроорганизмы: *Azotobacter*, *Rhizobium*, *Azosperilla*, *Clostridium*, *Bacillus*. N усваивается и включается в состав аминокислот. Помимо органических веществ могут быть и неорганические.

2) Минерализация – аммонификация – все растительные и гнилостные остатки попадают в почву, где разлагаются гнилостными бактериями, идёт образование аммиака, из органического состояния N переходит в минеральное. Аммонификация может происходить как анаэробно (гниение), так и аэробно (тление). Аэробные аммонификаторы: споровые: *B.micoides*, *B.mesentericus*, *B.megaterium*, *B.subtilis*, *B.polymyxa*. Неспоровые: *Ps.fluorescens*, *Bacterium prodigiosum*. Факультативные анаэробы неспоровые: *Proteus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Sarcina*, *E.coli*. Облигатные анаэробы: *Cl.pasteurianum*, *B.putrificus*, *Cl.perfringens*. Почвенные плесневые грибы: *Penicillum*, *Trichoderma*, *Aspergillus*.

Кроме белков в почву попадает мочевины. Мочевина разлагается в почве уробактериями: *Urobacillus pasteurii*, *Sarcina urea*, *Micrococcus urea*.

Уробактерии были открыты Пастером в 1862 г. Помимо бактерий мочевины может разлагаться и грибами: *Trichoderma*, *Aspergillus*.

3) Нитрификация – процесс окисления аммонийных солей до нитратов. Этот процесс осуществляется нитратными и нитритными бактериями. Виноградский установил, что этот процесс микробный, и осуществляется хемолитотрофными нитрифицирующими бактериями. Ему принадлежит открытие нитрификации как двух ступенчатого процесса и открытие хемосинтеза.

В результате 1 стадии аммиачные соли окисляются до азотистой кислоты:  $1) 2\text{NH}_3^+ + 2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{HNO}_2 + 4\text{H}^+ + 158 \text{ ккал}$ .

Возбудители 1 стадии: группа нитрозных бактерий: 4 рода: *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrosolobus*, *Nitrosospira*.

2 стадия: окисление азотистой кислоты в азотную.  $2) \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$

Возбудители: нитратные бактерии *Nitrococcus* и *Nitrobacter*.

4) Дальнейшая судьба N – восстановление N в процессе денитрификации.

$\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$

Восстановление нитратов до закиси N ( $\text{N}_2\text{O}$ ), далее в молекулярный азот  $\text{N}_2$ . Возбудитель: факультативные анаэробы – *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Achromobacter*, *Bacillus*. Грибы и актиномицеты не обладают способностью к денитрификации. Opt pH – 8,2-8,7. Этот процесс не желателен для растений и почвы, но за счёт этого происходит обогащение воздуха азотом. Денитрификация ещё называется «нитратным дыханием».

### 13.3. Круговорот S

Сера является биогенным элементом, которая входит в состав некоторых аминокислот (цистеин), эфирных масел. В почве сера встречается в форме сульфидов,

сульфатов и органических соединений. Валовые запасы серы в почвах сравнительно невелики, и растения часто ощущают недостаток в ней. Органические и неорганические формы серы под влиянием деятельности микроорганизмов подвергаются в почве различным превращениям. Органические соединения серы могут быть разрушены и минерализованы. Минерализация – неспецифический процесс, осуществляемый многими микроорганизмами, которые обладают протеолитическими ферментами и разлагают белки. Образуется  $H_2S$ .

$H_2S$  также образуется восстановлением неорганических соединений серы. Этот процесс осуществляется сульфатредуцирующими микроорганизмами: неспоровые *Desulphosarcina*, *Desulphococcus*, *Desulphovibrio*, споровые *Desulphotomaculum*. Это облигатные анаэробы, которые используют сульфаты в качестве окислителя органических соединений в процессе анаэробного дыхания (сульфатное дыхание). Они способны расти в автотрофных условиях – это хемолитоавтотрофы, которые используют энергию окисления молекулярного  $H_2$  кислородом сульфатов для фиксации  $CO_2$ . Данный процесс происходит в плохо аэрированных.

Помимо образования  $H_2S$  и сульфидов идёт окисление с образованием  $S$ ,  $H_2SO_4$  В аэробных условиях окисление осуществляют серобактерии и тионовые бактерии. К тионовым бактериям относят 4 рода: р. *Tiobacillus*, *Thiomicrospira*, *Thiodendron*, *Sulpholobus*. Тионовые бактерии широко распространены в почвах. Впервые чистую культуру выделил в 1904 г. М. Бейеринком. Это неспорообразующие микроорганизмы. Они окисляют  $S$ ,  $SO_3^{2-}$  до  $SO_4^{2-}$ . Выделяется энергия, которая используется для фиксации  $C$  из  $CO_2$ . Они могут существовать в кислой среде  $pH \leq 3$ . Тионовые бактерии участвуют в природном сернокислотном выветривании, увеличивают подвижность фосфатов, происходит подкисление почв.

Одноклеточные бесцветные серобактерии представлены родами *Achromatium*, *Thiobacterium*, *Macromonas*, *Thiospira*. К многоклеточным бесцветным (нитчатым) серобактериям относятся микроорганизмы родов *Beggiatoa*, *Thioploca*, *Thiothrix*. Эти микроорганизмы окисляют сероводород до элементарной серы, которая временно откладывается внутри клеток.

Окисляют соединения серы также фотолитоавтотрофные пурпурные и зелёные серобактерии. Они обычно обитают в среде, где имеется  $H_2S$ . Большой роли в почвах не играют.

#### 13.4. Круговорот P

Фосфор – важный биогенный элемент, он занимает в питании растений второе место после азота. Он содержится в почве, растениях и микроорганизмах в органических и неорганических соединениях. В почве P может быть в различных формах 1) он входит в структуру первичных минералов и встречается в форме фосфатов кальция (апатиты, оксиапатиты, фторапатиты), фосфатов и оксифосфатов железа; 2) от 25 до 85 % общего фосфора в различных почвах находится в органической форме. Органический P составляет от 0,5 до 2% органического вещества почвы. Фосфор входит в состав фитина (кальциймагниева соль инозитфосфорной кислоты), других инозитфосфатов, нуклеиновых кислот, фосфолипидов. В противоположность N и S, которые находятся в тканях в восстановленной форме, P входит в органические соединения в окисленной форме в виде фосфата. В процессе гниения этих органических остатков P освобождается в виде кислоты, которая вступает во взаимодействие с минералами почвы, образуются растворимые фосфаты. Органические соединения P разлагаются бактериями родов *Pseudomonas*, *Bacillus* (*B. megaterium*, *B. mesentericus*), грибами из родов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, некоторыми актиномицетами и другими микроорганизмами. Разложение указанных соединений также осуществляется дрожжами *Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Candida*. Превращение неорганических фосфатов. Ряд неорганических форм P в почве представлен нерастворимыми фосфатами кальция, которые содержатся в основных в нейтральных и щелочных почвах. Эти соединения фосфора, входящие в

состав минералов, недоступны для растений. Однако многие микроорганизмы могут переводить нерастворимые соединения фосфорной кислоты в растворимое состояние. К ним относятся представители бактерий (роды *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Micobacterium*) и грибов (*Penicillium*, *Aspergillus*). В некоторых случаях растворению фосфатов способствует азотная кислота, образуемая нитрифицирующими бактериями, и серная кислота, появляющаяся в результате деятельности бактерий, окисляющих серу. Всё это повышает доступность фосфора для растений.

### 13.5. Круговорот Fe

Fe в небольших количествах необходимо для всех существ. В почве оно содержится в виде органических и неорганических соединений. Растительные организмы усваивают неорганические соединения Fe, находящиеся в почве в растворимом виде. Существенную роль в трансформации Fe в природе, в частности в переводе нерастворимых соединений в растворимые и обратно, играют микроорганизмы.

Органические вещества, содержащие Fe (ферменты каталаза, пероксидаза, цитохромы, железопорфириновые соединения), разлагаются микроорганизмами. Минерализацию органических соединений, в состав которых входит Fe, могут осуществлять многие хемоорганогетеротрофные организмы (бактерии, актиномицеты и грибы).

Выявлены также разнообразные по морфологии микроорганизмы, способные окислять неорганические соединения железа в болота, ручьях, железистых источниках, озёрах. Эти организмы называются железобактерии, они катализируют окисление  $Fe^{2+}$   $Fe^{3+}$  с образованием гидроокиси Fe. К ним относятся нитчатые бактерии (*Leptothrix*, *Crenothrix*), бактерии родов *Gallionella*, *Metallogenium*. Осуществляется снижение закисных солей Fe до уровня, благоприятного для растений.

### Вопросы для самоконтроля

1. Круговорот углерода, карбоната и растворённого  $CO_2$  в морской воде, почве, атмосфере.
2. Образование метана при анаэробном разложении органических соединений. Основные источники метана.
3. Цикл азота.
4. Участие микроорганизмов в круговороте серы.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

#### Основная

1. **Ассонов, Н.Р.** Микробиология / Н.Р. Ассонов. – М.: Колос, 2011. – 352 с.
2. **Гусев, М.В.** Микробиология / М.В. Гусев, Л.А. Минаева. – М.: Академия, 2008. – 464 с.
3. **Емцев, В.Т., Мишустин, Е.Н.** Микробиология / В.Т. Емцев, Е.Н. Мишустин. – М.: Дрофа, 2005. – 446 с.

#### Дополнительная

1. Глик, Б. Молекулярная биотехнология. Принципы применения. / Б. Глик, Д. Пастернак. – М.: Мир, 2002. – 589 с.
2. **Громов, Б.В.** Строение бактерий / Б.В. Громов. – Л.: Изд-во ЛГУ, 1985. – 189 с.
3. **Готшлак, Г.** Метаболизм бактерий / Г. Готшлак. – М.: Мир, 1982. – 310 с.
4. **Шлегель, Г.** Общая микробиология / Г. Шлегель. – М.: Мир, 1987, – 568 с.
5. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии / А.А. Воробьёв, [и др.]. – М.: Мастерство; Высшая школа, 2001. – 224 с.

## ВЛИЯНИЕ ФИЗИЧЕСКИХ И ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ

Факторы внешней среды, влияющие на микроорганизм подразделяются на физические, химические, биологические.

### 14.1. Влияние физических факторов на микроорганизмы.

К числу основных **физических факторов** как в естественной среде, так и в условиях лаборатории относятся температура, свет, электричество, высушивание, осмотическое давление, лучистая энергия. Все физико-химические процессы, обеспечивающие функциональную активность клетки, а также состояние её макромолекул, в большей или меньшей степени зависит от температуры. При высокой температуре белки, нуклеиновые кислоты и другие компоненты клетки могут необратимо инактивироваться, что приводит к её гибели. При слишком низкой температуре тоже нарушаются процессы биосинтеза, что ограничивает развитие микроорганизмов.

По отношению к **температуре** бактерии делят на три основные группы:

1) Большинство известных видов прокариот относятся к **мезофилам**, для них оптимальные температуры роста лежат в пределах от 20 до 42 °С. Типичным представителем является *Escherichia coli*, оптимальная температура роста которой 37 °С.

2) Микроорганизмы, способны нормально расти при низких (0 – 20 °С) температурах, называют **психрофилами**. Психрофильные микроорганизмы делятся на облигатные и факультативные. Основное различие между ними заключается в том, что облигатные психрофилы не способны к росту при температуре выше 20 °С, а верхняя граница роста факультативных психрофилов намного выше.

**Облигатные психрофилы** – узкоспециализированные микроорганизмы, обитающие в постоянно холодной среде, их температурный оптимум ниже 15 °С, максимум – около 20 °С; при 30 °С они отмирают. Облигатные психрофилы обитают в холодных почвах, холодных морях Арктики и Антарктики, на вечных снегах высокогорных районов, их находят в пробах из горных ледников, в воде колодцев и родников. В качестве представителей облигатных психрофилов можно привести бактерии *Bacillus psychrophilus*, морские светящиеся бактерии, железобактерии.

**Факультативные психрофилы** распространены значительно шире и встречаются в почвах и водах не только холодной, но и умеренной. Многие из них вызывают порчу пищевых продуктов при низких температурах. Оптимум для роста факультативных психрофилов соответствует 20 – 30 °С, т.е. они способны расти в условиях, благоприятных для мезофильных организмов. К этой группе относят некоторые виды бактерий родов *Pseudomonas*, *Arthrobacter* и др.

Способность психрофилов развиваться при низкой температуре связывают с особенностью строения их клеток: а) температурный оптимум активности ферментов у них ниже, чем у аналогичных ферментов мезофильных микроорганизмов; б) проницаемость их мембран остаётся высокой при охлаждении благодаря содержанию в липидах ненасыщенных жирных кислот, вследствие чего мембраны не застывают и остаются полужидкими; в) белкосинтезирующий аппарат психрофилов способен функционировать при низких температурах.

3) К **термофильным** относят микроорганизмы, которые растут при температуре выше 45-50 °С. Группу термофилов делят на 4 подгруппы:

а) **термотолерантные** – растут в пределах от 10 до 55-60 °С, оптимальная область лежит при 35-40 °С (как у мезофилов). Основные их отличия от мезофилов – способность расти при повышенных температурах. Примером термотолерантных бактерий являются бактерии вида *Methylococcus capsulatus*.

б) **факультативные термофилы** имеют температурный максимум 50-60 °С и минимум менее 20 °С, оптимум приходится на область температур близких к верхней границе роста.

Примером факультативных термофилов являются к гомоферментативные молочнокислые бактерии рода *Lactobacillus*

в) **облигатные термофилы** способны расти при температурах до 70 °С и не растут при температурах ниже 40 °С. Оптимальная температурная область облигатных термофилов примыкает к их верхней границе роста (65-70 °С). Представители облигатных термофилов – бактерии вида *Bacillus stearothermophilus* и др.

г) **экстремальные** термофилы имеют следующие температурные параметры: оптимум в области 70-75 °С, минимальная граница роста – 40 °С и выше, максимальная – около 90 °С. Эти микроорганизмы распространены в горячих источниках, особенно в районах активной вулканической деятельности. Представители родов *Thermus*, *Thermomicrobium*, *Thermoplasma* и др.

Природу термоустойчивости у бактерий объясняют рядом структурных и биохимических особенностей этих бактерий: а) липиды, входящие в состав клеточных мембран, содержат насыщенные жирные кислоты. В связи с этим они имеют более низкую точку плавления по сравнению с липидами, содержащими ненасыщенные жирные кислоты; б) у экстремально термофильных бактерий обнаружено повышенное содержание гуанина и цитозина в ДНК, что придаёт стабильность и повышенную точку плавления этих молекул; в) ферменты термофилов гораздо устойчивее к нагреванию в сравнении с соответствующими белками мезофильных бактерий. Часто такая высокая термостабильность достигается в результате изменения первичной структуры белковой молекулы.

Микроорганизмы подвержены воздействию разных видов **электромагнитных излучений**. Эффект воздействия зависит от дозы облучения и длины волны. Наиболее длинноволновая радиация (радиоволны – длина волны более 1100 нм) не вызывает биологического эффекта. Инфракрасные лучи (700-1100 нм) проявляют тепловое действие на микроорганизм и используется зелёными и пурпурными бактериями в процессе фотосинтеза. Видимая часть спектра (300-700 нм) используется цианобактериями и другими фототрофными бактериями в процессе фотосинтеза. УФ-лучи (10-300 нм) могут оказывать на микроорганизмы как микробицидное, так и мутагенное действие, что определяется видом микроорганизмов и дозой облучения. Наибольший летальный эффект УФ-лучей наблюдается при длине волны 260 нм, при котором отмечается максимум поглощения УФ-лучей молекулами ДНК. Ионизирующая радиация, под которой обычно подразумевают рентгеновское и гамма-излучение (с длиной волны менее 10 нм), вызывает летальный для клетки эффект.

Высокие значения гидростатического давления приводят к разрушению клеточных структур, происходит денатурация белков, прекращается деление и клетки приобретают нитевидную форму. Однако существуют бактерии, которые живут на глубине 7000 м и более, где давление достигает более 1000 атмосфер. Из осадков на дне океанов выделяют бактерии двух групп: баротолерантные и пьезофильные (барофильные). Баротолерантные бактерии размножаются как при обычном, так и при давлении в несколько сот атмосфер. Барофильные (менее многочисленная группа) при давлении в несколько сот атмосфер дают больший урожай биомассы, чем при атмосферном давлении. Пьезофильные бактерии (например, бактерии вида *Bacillus submarinus*) – это обитатели глубоководных впадин морей и океанов.

Концентрация веществ, растворённых в окружающей среде, т.е. осмотическое давление, также оказывает большое влияние на жизнеспособность микроорганизмов: чем концентрированнее раствор, тем труднее клетке поглощать из него воду. В гипертонических растворах, т.е. таких, в которых осмотическое давление больше, чем в клетке, происходит обезвоживание клеток (плазмолиз) и полное прекращение роста. Это явление называется физиологической сухостью. Однако некоторые микроорганизмы способны нормально развиваться в достаточно концентрированных растворах. Такие микроорганизмы называют осмофильными. Осмовильные микроорганизмы, для которых

требуется высокое содержание NaCl, получили название галофильных. К экстремальным галофилам относятся бактерии из родов *Halobacterium* и *Halococcus*. Галофильные бактерии обнаружены в солёных озёрах, в солончаковых почвах. Они вызывают порчу солёной рыбы и мяса.

Высокочастотные (> 16 кГц) механические колебания упругой среды или ультразвук не воспринимаются нашими органами слуха. При воздействии на микроорганизм ультразвук создаёт большую разницу в давлении на отдельные части клеток и повреждает их: разжижается и вспенивается цитоплазма, разрушаются поверхностные структуры, содержимое клетки смешивается с окружающей средой. Чем крупнее клетки, тем они более чувствительны к воздействию ультразвука; палочки и извитые формы более чувствительны, чем кокки. При длительном воздействии наблюдается полная гибель микроорганизмов, что используется в целях стерилизации. Ультразвук применяют и для разрушения клеток с целью извлечения из них некоторых биологически активных веществ.

Кроме охарактеризованных физических факторов на развитие микроорганизмов оказывает воздействие изменение напряжения магнитных полей. Небезразличны микроорганизмы также к действию земного притяжения, сотрясений, а также электрического тока.

#### **14.2. Влияние химических факторов на микроорганизмы.**

Действие химических факторов на микроорганизм.

Если химическое вещество подавляет рост, но не убивает микроорганизм, то данное действие вещества называется бактериостатическим, при бактерицидном действии химический реагент убивает бактерии.

Химически соединения по механизму действия на клетки микроорганизмов могут быть разделены на 2 группы: 1) повреждающие клеточную стенку или цитоплазматическую мембрану; 2) повреждающие ферменты, участвующие в обмене веществ, а также нарушающие синтез основных биополимеров клетки.

К первой группе веществ относятся химические вещества, повреждающие структуру клеточной стенки (лизозим), нарушающие полупроницаемость цитоплазматической мембраны (фенолы, хлороформ, нейтральные мыла, поверхностно-активные вещества, эфиры, ионы водорода, спирты, толуолы). Действие фенола, хлороформа эфира, толуола, спирта связано с растворением липидов цитоплазматической мембраны, что приводит к нарушению её проницаемости и разрушению. Этанол в высокой концентрации (70 %) вызывает коагуляцию белков и оказывает микробицидное действие. Поверхностно активные вещества способны накапливаться в липопротеиновых мембранах (за счёт того, что они имеют полярную структуру) и вызывают нарушение их функций. Поскольку эти вещества имеют широкий спектр антимикробного действия их применяют для дезинфекции. *Антисептика* – уничтожение микробов с помощью химических веществ.

Концентрация ионов водорода действует на микроорганизмы двояко: 1) оказывает непосредственное действие на полупроницаемость цитоплазматической мембраны; 2) оказывает опосредованное действие через а) влияние на ионное состояние и доступность многих ионов и метаболитов; б) стабильность молекулы; в) равновесие зарядов на поверхности клетки.

В зависимости от отношения к кислотности среды бактерии делятся на: 1) нейтрофилы – оптимальное значение pH для роста составляет 6-8, а рост возможен в диапазоне от 4 до 9. Типичными нейтрофилами являются штаммы бактерий *Escherichia coli*, *Bacillus megaterium*, *Streptococcus faecalis*.

2) ацидофилы – оптимальная кислотность для роста 4 и ниже. Среди них различают факультативные ацидофилы (интервал pH 1-9, оптимум 2-4) и облигатные ацидофилы (интервал 1-5, оптимум 2-4). В природе такие экстремально кислые условия встречаются

в некоторых озёрах, болотах, горячих источниках. Типичными представителями облигатных ацидофилов являются бактерии родов *Thiobacillus*, *Sulfolobus*, *Acetobacter*.

3) алкалофилы – оптимальные условия для развития находятся в пределах рН 9,0-10,5, которые встречаются в щелочных почвах, в местах скопления экскрементов животных. Среди алкалофилов различают факультативные алкалофилы (интервал рН для роста 5-11, оптимум 9,0-10,5), к которым относятся нитратвосстанавливающие и сульфатвосстанавливающие бактерии. Облигатные алкалофилы растут при высоких значениях рН – 8,5-11,0 при оптимуме 9,0-10,5. К таким бактериям относят *Bacillus pasteurii* и некоторые цианобактерии.

К группе химических веществ, оказывающих микробицидное действие на микроорганизмы, повреждающих ферменты и вызывающих нарушение обмена веществ, относятся ионы тяжёлых металлов, окись углерода, цианиды, марганцевокислый калий, перекись водорода, хлорная известь, иод.

Ионы тяжёлых металлов (Hg, Ag, Co, Pb, Ni, Zn, Cd) вызывают изменения свойств белков и коферментов. Цианиды действуют как дыхательные яды – связывая железо, они блокируют функцию терминального дыхательного фермента цитохромоксидазы. Окись углерода подавляет дыхание, конкурируя со свободным кислородом за цитохромоксидазу. Окислители –  $\text{KMnO}_4$ , иод,  $\text{H}_2\text{O}_2$  вызывают резкое усиление окислительных процессов, приводящих к гибели клетки.

*Консерванты* – это химические вещества, которые ограничивают рост нежелательной микрофлоры в продуктах питания, косметических средствах и др. К ним относят соль, сахар, лимонную, молочную, уксусную кислоту.

#### Вопросы самоконтроля

1. Влияние температуры на рост микроорганизмов.
2. Влияние осмотического давления на рост микроорганизмов.
3. Влияние гидростатического давления на рост микроорганизмов.
4. Влияние химических факторов окружающей среды на рост микроорганизмов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Ассонов, Н.Р.** Микробиология / Н.Р. Ассонов. – М.: Колос, 2011. – 352 с.
2. **Гусев, М.В.** Микробиология / М.В. Гусев, Л.А. Минаева. – М.: Академия, 2008. – 464 с.
3. **Емцев, В.Т., Мишустин, Е.Н.** Микробиология / В.Т. Емцев, Е.Н. Мишустин. – М.: Дрофа, 2005. – 446 с.

#### Дополнительная

1. Глик, Б. Молекулярная биотехнология. Принципы применения. / Б. Глик, Д. Пастернак. – М.: Мир, 2002. – 589 с.
2. **Громов, Б.В.** Строение бактерий / Б.В. Громов. – Л.: Изд-во ЛГУ, 1985. – 189 с.
3. **Шлегель, Г.** Общая микробиология / Г. Шлегель. – М.: Мир, 1987, – 568 с.
4. **Котова, И.Б., Нетрусов, А.И.** Общая микробиология / И.Б. Котова, А.И. Нетрусов. – М.: Академия, 2007. – 288 с.
5. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии / А.А. Воробьёв, [и др.]. – М.: Мастерство; Высшая школа, 2001. – 224 с.

## ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА МИКРООРАГНИЗМЫ. ПРИНЦИПЫ ПЕРЕРАБОТКИ И ХРАНЕНИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ ПРОДУКЦИИ.

### 15.1. Виды симбиоза.

Микробы находятся друг с другом в различных взаимоотношениях. Совместное существование двух различных организмов симбиозом. (от греч. *symbiosis* – совместная жизнь). Различают несколько видов полезных взаимоотношений.

1. Метабиоз - взаимоотношение микроорганизмов, при котором один микроорганизм использует для своей жизнедеятельности продукты жизнедеятельности другого. Например, почвенные нитрифицирующие бактерии, использующие для своего метаболизма аммиак – продукт жизнедеятельности аммонифицирующих почвенных бактерий.

2. Мутуализм – взаимовыгодное взаимоотношение разных организмов. Например, лишайники – симбиоз гриба и сине-зелёной водоросли. От водоросли гриб получает органические вещества, водорослям поставляет минеральные соли и защищает от высыхания.

3. Комменсализм (от лат. *commensalis* – сотрапезник) – сожительство особей разных видов, при котором выгоду из симбиоза извлекает один вид, не причиняя другому вреда. Например, представители нормальной микрофлоры человека.

4. Саттелитизм – усиление роста одного вида микроорганизма под влиянием другого микроорганизма. Например, колонии дрожжей и сарцин, выделяя в питательную среду метаболиты, стимулируют рост вокруг их колоний некоторых других микроорганизмов.

5. Антагонизм - когда продукты жизнедеятельности одних организмов подавляют жизнедеятельность других. Например, нормальная микрофлора толстого кишечника человека – бифидобактерии, лактобациллы, кишечная палочка являются антагонистами гнилостных микроорганизмов.

### 15.2. Антибиотики.

Распространённой формой антагонизма является образование антибиотиков. Антибиотики – низкомолекулярные (молекулярная масса - от 150 до 5000 дальтон) продукты метаболизма микроорганизмов, растений и животных, задерживающие рост или полностью подавляющие развитие других микроорганизмов. Большинство известных в настоящее время антибиотиков образуется именно клетками микроорганизмов. Первый антибиотик был открыт шотландским бактериологом А.Флемингом в 1929 г. Изучение пенициллина в бывшем Советском Союзе было начато З.В. Ермоловой в 1942 году.

Пенициллины, синтезируемые различными микроорганизмами близки по химическому строению. Они относятся к  $\beta$ -лактамам, общим для которых является наличие  $\beta$ -лактамного кольца. Примером полусинтетических антибиотиков пенициллинового ряда являются: ампициллин, карбенициллин, метициллин, фенициллин. Полусинтетические антибиотики хороши тем, что они не инактивируются  $\beta$ -лактамазами, которые синтезируются многими микроорганизмами, устойчивыми к природным пенициллинам и лечить заболевания, возбудителями которых являются такие микроорганизмы ими нельзя.

Отличие антибиотиков от других продуктов метаболизма микроорганизмов, также подавляющих рост отдельных видов микробов:

1. Антибиотики обладают высокой биологической активностью. Например, для подавления роста грамположительных бактерий требуется всего 0,01 -0,25 мкг/мл эритромицина.

2. Антибиотики обладают избирательной активностью биологического действия, т.е. не все микроорганизмы чувствительны к конкретному антибиотику. Микроорганизмы делят на чувствительные и резистентные (устойчивые) к определённым антибиотикам.

По происхождению антибиотики делят на: 1) выделенные из грибов (пенициллин); 2) выделенные из бактерий (полимиксин); 3) антибиотики животного происхождения (эритроин); 4) антибиотики растительного происхождения (фитонциды: аллицин, рафанин). К настоящему времени выделено и описано более 3000 антибиотиков. Примерно 50% известных антибиотиков синтезируется штаммами, принадлежащими к актиномицетам, причём главным образом к одному из родов – роду *Streptomyces*. Среди бактерий следует выделить спорообразующие бактерии *Bacillus subtilis*, которые способны образовывать около 70 различных полипептидных антибиотиков, *Bacillus polymyxa* – 20 антибиотиков, которые относят к семейству полимиксиновых, *Bacillus brevis* – 23 антибиотика. Антибиотики продуцируются также многими видами плесневых грибов (пенициллин).

Антибиотики часто объединяют в группы в зависимости от того, рост каких микроорганизмов они подавляют: противовирусные, антибактериальные, противоопухолевые, противогрибковые, антипротозойные. Чувствительность различных бактерий к антибиотикам определяется в значительной мере структурой клеточной стенки, т.к. от этого зависит способность антибиотика проникать в бактериальную клетку. В соответствии с активностью в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий антибактериальные антибиотики делятся на 2 группы. Большинство антибиотиков действует на грамположительные бактерии, т.к. в ней нет дополнительного барьера наружной мембраны. Такие антибиотики относят к соединениям с узким спектром действ. Антибиотики, активные в отношении Г+ и Г- - ант. с широким спектром действия.

Антибиотики могут либо убивать микроорганизм (бактерицидный эффект), либо задерживать его рост (бактериостатический эффект). Бактерицидный или бактериостатический эффект, вызываемый антибиотиками связан с нарушением отдельных звеньев метаболизма или структур бактериальной клетки.

В зависимости от механизма действия антибиотики делят на несколько групп: 1) Ингибирующие синтез клеточной стенки. Например, пенициллин ингибирует синтез пептидогликана. Он нарушает образование пептидных связей в процессе синтеза пептидогликана, инактивируя фермент транспептидазу. Синтезируется «несшитый» пептидогликан, в результате чего образуется ослабленная клеточная стенка, неспособная выдержать увеличив-ся в рез-те роста клетки давление, что приводит к лизису клетки; 2) Нарушающие функционирование цитоплазматической мембраны. Например, грамицидин А включается в структуру клеточной мембраны, образуя каналы, что позволяет катионам выходить из клетки; 3) подавляющие синтез РНК. Например, актиномицин D присоединяется к остаткам гуанина и препятствует перемещению ДНК-зависимой РНК-полимеразы вдоль ДНК из-за невозможного расплетания цепей и, следовательно, подавляет синтез иРНК. Рифампицин связывается с  $\beta$ -субъединицей ДНК-зависимой РНК-полимеразы и подавляет синтез мРНК; 4) подавляющие синтеза ДНК. Например, митомицин С образует поперечные сшивки в двойной спирали ДНК в области репликативной вилки и ДНК-полимераза не может продвигаться по ДНК и осуществлять репликацию;

5) ингибирующие синтез белка. Действие таких антибиотиков направлено на функцию 70 S рибосом. Например, эритромицин и хлорамфеникол связываются с 50 S субъединицей рибосом, подавляют включение аминокислот в белки; аминогликозидные антибиотики (стрептомицин, неомицин, канамицин), группа тетрациклинов связываются с 30 S-субъединицей рибосом, препятствуют присоединению аминоцил-РНК к рибосомам, что прекращает биосинтез белка; фузидиевая кислота блокирует функционирование фактора элонгации, что препятствует транслокации рибосом и нарушает синтез белка.

Практическое использование антибиотиков заключается в следующем:

- 1) Лечение инфекционных заболеваний человека и животных. Однако они могут вызывать аллергии, дисбактериоз, анафилактический шок.
- 2) Защита растений от болезней, вызываемых бактериями и грибами.
- 3) Стимуляция роста сельскохозяйственных животных.

- 4) Предотвращение порчи мяса, рыбы и других продуктов.
- 5) Применяются в исследовании специфических функций клетки (синтез пептидогликана, биосинтез белка, транспорт ионов через мембрану и т.д.).

### **15.3. Принципы переработки и хранения сельскохозяйственной продукции.**

*Хранение пищевых продуктов, основанное на биологических, физических и химических принципах.*

*Биоз* (bios – жизнь). На этом явлении основано хранение свежих фруктов и овощей. В помещениях, где размещаются такие продукты, создают условия, препятствующие развитию микробов, путём понижения температуры до +5 °С и поддержания определённой влажности. Микробы, расположенные на поверхности, замедляют своё развитие и тем самым предотвращают разложение ими органического вещества.

*Абиоз* (abiosis – отрицание, уничтожение жизни) достигается физическими и химическими способами. Этот принцип положен в основу хранения мясных и овощных консервов после обработки их в паровом стерилизаторе при 120 °С и выше. При высокой температуре погибают вегетативные и споровые формы микробов, прекращаются жизнь и сопутствующие ей процессы, благодаря чему содержимое консервных банок может храниться неопределённо долгое время. Уничтожить микробов можно и химическими веществами, безвредным для организма человека. Термический способ стерилизации консервов более надёжен, а содержащиеся в банке продукты не представляют опасности для здоровья человека.

*Анабиоз* (anabiosis – задержка жизни) происходит во время сушки или замораживания. Так хранят рыбные и мясные продукты, фрукты и овощи. При недостатке свободной воды жизнедеятельность микробов приостанавливается, процессы, вызываемые ими, задерживаются. Увеличение влаги и тепла к восстановлению жизнедеятельности микробов, разложению органического вещества, увеличению порчи продуктов. Поэтому при отсутствии анабиотических условий такие продукты следует немедленно реализовывать.

*Ценоанабиоз* – способ хранения главным образом растительной пищи, при котором консервирующее вещество (молочная кислота) вырабатывают сами микроорганизмы в процессе силосования, квашения и других способов приготовления кормов и овощей.

### **Вопросы самоконтроля**

1. Виды симбиоза
2. Учение об антибиотиках. Классификация.
3. Принципы хранения сельскохозяйственной продукции на основе биоза, абиоза, анабиоза и ценоанабиоза.

### **СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. **Асонов, Н.Р.** Микробиология / Н.Р. Асонов. – М.: Колос, 2011. – 352 с.
3. **Гусев, М.В.** Микробиология / М.В. Гусев, Л.А. Минаева. – М.: Академия, 2008. – 464 с.
4. **Емцев, В.Т., Мишустин, Е.Н.** Микробиология / В.Т. Емцев, Е.Н. Мишустин. – М.: Дрофа, 2005. – 446 с.

#### *Дополнительная*

1. **Громов, Б.В.** Строение бактерий / Б.В. Громов. – Л.: Изд-во ЛГУ, 1985. – 189 с.
2. **Шлегель, Г.** Общая микробиология / Г. Шлегель. – М.: Мир, 1987. – 568 с.
3. **Котова, И.Б., Нетрусов, А.И.** Общая микробиология / И.Б. Котова, А.И. Нетрусов. – М.:
4. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии / А.А. Воробьёв, [и др.]. – М.: Мастерство; Высшая школа, 2001. – 224 с.

**МИКРОФЛОРА ВОДЫ, ВОЗДУХА, ПОЧВЫ****16.1 Микрофлора воздуха**

Микрофлора воздуха зависит от микрофлоры почвы или воды, над которыми расположены слои воздуха. Предел распространения очень высок – до 12 км. Воздух – это неблагоприятная среда, т.к. постоянно происходит воздействие абиотических факторов. В воздухе нет питательной среды, которая поддерживала бы существование. В воздухе трудно поддерживать высокую концентрацию. В почве и воде микробы могут размножаться, в воздухе же они не размножаются, а только некоторое время сохраняются. Поднятые в воздух пылью они или оседают с каплями обратно на поверхность земли, или погибают в воздухе от недостатка питания и от действия ультрафиолетовых лучей. Однако некоторые из них более устойчивые, например, туберкулезная палочка, споры клостридий, грибов и др., могут длительно сохраняться в воздухе.

Микрофлора воздуха отличается тем, что содержит много пигментированных, а также спорноспособных бактерий, как более устойчивых к ультрафиолетовым лучам (сарцины, стафилококки, розовые дрожжи, чудесная палочка, сенная палочка и другие). Наибольшее количество микробов содержится в воздухе промышленных городов. Наиболее чист воздух над лесами, горами, снежными просторами. Верхние слои воздуха содержат меньше микробов. Над Москвой на высоте 500 м в одном метре воздуха содержатся 2—3 бактерии, на высоте 1000 м — в 2 раза меньше.

Весьма богат микробами воздух в закрытых помещениях, особенно в кинотеатрах, вокзалах, школах, в животноводческих помещениях и других. Вместе с безвредными сапрофитами в воздухе, особенно закрытых помещений, могут находиться и болезнетворные микробы: туберкулезная палочка, стрептококки, стафилококки, возбудители гриппа, коклюша и так далее. Гриппом, корью, коклюшем заражаются исключительно воздушно-капельным путем. При кашле, чихании выбрасываются в воздух мельчайшие капельки-аэрозоли, содержащие возбудителей заболеваний, которые вдыхают другие люди и, заразившись, заболевают.

Скопление и циркуляция возбудителей заболеваний в воздухе лечебно-профилактических учреждений является одной из причин возникновения госпитальных гнойно-септических инфекций. Вследствие этого в последнее время уделяют большое внимание санитарно-бактериологическому исследованию воздуха в больницах, операционных, родильных домах, детских учреждениях и др. Исследования проводят как в плановом порядке, так и по эпидемиологическим показаниям

Микробиологический анализ воздуха на патогенную флору производят только по эпидемическим показаниям. В плановом порядке пробы воздуха для бактериологического исследования берутся в операционных блоках, послеоперационных палатах, отделениях реанимации, интенсивной терапии и других помещениях, требующих асептических условий. По эпидемическим показаниям бактериологическому исследованию подвергают воздух ясель, детских садов, школ, заводов, кинотеатров и так далее. Обнаружение в воздухе закрытых помещений гемолитического стрептококка группы А и стафилококка, обладающего признаками патогенности, являются показателем эпидемического неблагополучия данного объекта.

**16.2. Микрофлора воды**

Вода является естественной средой обитания многих микробов. Основная масса микробов поступает из почвы, воздуха, с отбросами, стоками. Количество микробов в 1 мл воды зависит от наличия в ней питательных веществ. Чем вода сильнее загрязнена органическими остатками, тем больше в ней микробов. Наиболее частыми являются воды глубоких артезианских скважин, а также родниковые воды. Обычно они не содержат микробов. Особенно богаты микробами открытые водоемы и реки. Микроорганизмы находятся как на поверхности, так и на глубине 10-12 км. Наибольшее количество

микробов в них находится в поверхностных слоях (в слое 10 см от поверхности воды) прибрежных зон. С удалением от берега и увеличением глубины количество микробов уменьшается. В чистой воде находится 100—200 микробных клеток в 1 мл, а в загрязненной — 100—300 тыс. и больше. Качественный состав зависит от самой воды, от поступления сточных вод с промышленных предприятий, с инфекционных больниц.

Реки в районах городов часто являются естественными приемниками стоков хозяйственных и фекальных нечистот, поэтому в черте населенных пунктов резко увеличивается количество микробов. К постоянноживущим в воде микроорганизмам относятся *Azotobacter*, *Nitrobacter*, *Vibrio cholerae*.

Но по мере удаления реки от города число микробов постепенно уменьшается, и через 3—4 десятка километров снова приближается к исходной величине. Это самоочищение воды зависит от ряда факторов: механическое осаждение микробных тел, уменьшение в воде питательных веществ, усвояемых микробами, действие прямых лучей солнца, пожирание бактерий простейшими и др.

Патогенные микробы попадают в реки и водоемы со сточными водами. Возбудители таких кишечных инфекций, как брюшной тиф, паратифы, дизентерия, холера и др., могут сохраняться в воде длительное время. В этом случае вода становится источником инфекционных заболеваний.

Особенно опасно попадание болезнетворных микробов в водопроводную сеть. Поэтому за состоянием водоемов и подаваемой из них водопроводной воды установлен санитарно-бактериологический контроль.

### **16.3. Микрофлора почвы**

Почва обильно заселена микроорганизмами, так как в ней есть все необходимое для жизни: органические вещества, влага, защита от солнечных лучей. В почве встречаются все формы микроорганизмов: по количеству первое место занимают бактерии, затем актиномицеты, плесневые грибки и простейшие (амебы, жгутиковые, инфузории). В значительно меньших количествах встречаются одноклеточные водоросли (зеленые, сине—зеленые, диатоловые), вирусы, микоплазмы.

Общее микробное число в 1 г почвы может достигать 1—5 млрд. В 1 га почвы содержится 1 тонна живого веса бактерий, однако в разных слоях количество микроорганизмов неодинаково. В самом верхнем слое почвы микроорганизмов очень мало (слой « 0,5 см), т.к. на него воздействуют физические факторы. На глубине 1—2—5 см до 30—40 см число микроорганизмов больше всего. В этом слое содержится в среднем 10—50 млн микробных клеток в 1 г. В относительно чистых почвах этот показатель равен 1,5—2 млн клеток в 1 г. Глубже 30—40 см число микроорганизмов снижается и в более глубоких слоях их опять мало.

Факторы, влияющие на качественный и количественный состав микроорганизмов почвы

На численность и вещевой состав микроорганизмов влияют следующие факторы:

1. *Тип почвы* (тундровая, подзолистая, черноземная, сероземная).

Наиболее богаты микроорганизмами черноземные почвы, в которых до 10% органических веществ от сухого веса почвы. В 1 г черноземной почвы более 3,5 млн микробных клеток. На микробный пейзаж в таких почвах влияет обильная растительность с богатой корневой системой. Корни выделяют в почву белковые и азотистые вещества, минеральные соли, органические кислоты, витамины. В результате этого вокруг корней создаются ризосферы, т. е. скопления микроорганизмов. Микроорганизмы, в свою очередь, влияют на биохимические процессы в почве, на плодородие. Истощенные, гористые и песчаные почвы бедны микроорганизмами. В таких почвах органических веществ 1% от сухого веса почвы.

2. *Влажность почвы.*

Во влажных почвах микроорганизмы размножаются лучше, чем в сухих, но в почвах торфяных болот, несмотря на большое количество влаги и органических веществ

(до 50%), микроорганизмов мало, так как эти почвы имеют кислую реакцию и в них проявляется антагонистическое влияние мхов.

### 3. Аэрация.

Почвы, богатые влагой, плохо аэрируются. В этих условиях преобладают анаэробы, а песчаные почвы аэрируются лучше, поэтому в них больше аэробов.

### 4. Температура почвы.

В теплые периоды года микроорганизмов во много раз больше, чем зимой. Зимой развитие микроорганизмов прекращается, и они погибают. Наблюдаются суточные колебания количества микроорганизмов в почве. Наиболее благоприятная температура 20—30°C, а при температуре 10°C и ниже развитие замедляется.

### 5. Адсорбционная способность почв.

Наибольшая адсорбирующая способность почв наблюдается у гумусовых, она зависит от содержания в почве илистых частиц, количества средней и мелкой пыли, рН почвы. Эти почвы богаты кальцием. Характер почв влияет и на глубину проникновения микроорганизмов.

В более влажных северных почвах жизнь микроорганизмов как бы «прижата» к поверхности, а в легких, щелочных южных почвах — жизнь микроорганизмов «углубляется». Они могут быть обнаружены на глубине 10 м и более. Наиболее разнообразен видовой состав микробов около прикорневой зоны растений. Микробы обитают в почве, как правило, в водных и коллоидных пленках, обволакивающих почвенные частицы.

### *Почва как фактор распространения инфекционного заболевания*

Микрофлору почв делят на 2 группы:

- 1) аутоτροφная, которая питается минеральными веществами.
- 2) гетеротрофная — питается органическими веществами.

Обе группы участвуют в процессах самоочищения почв, минерализации почв, хотя некоторые представители гетеротрофов загрязняют почву — это и патогенная микрофлора.

Основная масса патогенной микрофлоры в почве постепенно отмирает, однако имеют различную длительность.

Дизентерийная палочка при 18°C выживает в различных типах почв от 3 до 65 дней, *S. typhi* и *paratyphi* — 19—101 день.

Споровая микрофлора сохраняется дольше, даже годами и, напротив, холерные вибрионы, палочки чумы, бруцеллеза, вирусы полиомиелита — от нескольких часов до нескольких месяцев.

### *Процессы самоочищения в почве*

При попадании в почву органических веществ сразу же повышается общее микробное число (ОМЧ), а также общее число сапрофитов (ОЧС). Сначала размножаются гетеротрофы, обладающие очень высокой ферментативной активностью и представленные семейством кишечных, псевдомонад, аэромонад, и др. В этот период в почве много фекальных бактерий (бактерий группы кишечной палочки — БГКП, энтерококки, *Cl. perfringens*), много протеолитов, разлагающих белки, пептоны, желатина, много аммонификаторов, т. е. микробов, расщепляющих белки до  $\text{NH}_3$ .

В процессе самоочищения почвы все время меняется состав микрофлоры. По мере повышения кислотности в почве появляются ацидофильные микроорганизмы: молочнокислые бактерии, дрожжи, грибы, плесени, актиномицеты.

По мере накопления аммиака в почве начинают размножаться нитрификаторы, т. е. микроорганизмы, окисляющие  $\text{NH}_3$  до нитритов и нитратов. Эти микроорганизмы завершают цикл превращений органических веществ в неорганические. Одновременно с процессами нитрификации идут процессы денитрификации, т. е. восстановление нитратов в нитриты, а далее в газообразный азот. На этом этапе ОМЧ почвы становится низким. Видовой состав и численность микрофлоры стабилизируется. Активные вегетативные

формы спорообразующих бактерий и грибов уступают покоящимся спорам бацилл, актиномицетам, грибам.

В чистых почвах всегда доминируют покоящиеся споры. Спорообразование всегда говорит о законченных процессах минерализации почвы. Сочетание ОМЧ и нитрификаторов используют для распознавания и отличия чистых почв от почв, бывших загрязненными, но находящимися на стадии минерализации. Для них характерно низкое ОМЧ, но высокое число нитрификаторов.

Всю микрофлору почвы принято делить на постоянную (резидентную) и временную, т.е. поступающую из вне (зимогенную). В группу постоянной микрофлоры входят бактерии из рода *Bacillus* (*B. subtilis*, *B. mycoiellis*, *B. mesentericus*, *B. nugaterium*) и *Clostridium* (*Cl.tetani*, *Cl. chauvori*, *Cl. perfringens*, *Cl. oedomaticus*, *Cl. botulinum*), а также актиномицеты, которые придают цвет и запах почве. Группа временной микрофлоры делится на 2 подгр.: а) микробы, длительно сохраняющиеся в почве (спорообразующие) например, *Bac. anthracis* (50 лет); б) микробы сохраняющиеся недолго - *Brucella*, *M. tuberculosis*, *Salmonella*, *Pseudomonas*, *Leptospira* и т.д.

#### *Санитарная характеристика почв*

Почва — одна из главных составляющих природной среды, которая благодаря своим свойствам (плодородие, самоочищающая способность и др.) обеспечивает человеку питание, работу, здоровую среду обитания. Нарушение этих процессов, вызванное загрязнением, может оказать неблагоприятное влияние на здоровье людей и животных. Наблюдается распространение инфекционных и инвазионных заболеваний, ухудшение качества продуктов питания, воды, водоисточников, атмосферного воздуха. Это понимание почвы, как одного из главных компонентов окружающей среды, от которого зависят условия жизни и здоровья населения, требует большого внимания к ее санитарной охране.

Опасность загрязнения почв определяется уровнем ее возможного отрицательного влияния на контактирующие среды (вода, воздух), пищевые продукты и прямо или опосредованно на человека, а также на биологическую активность почвы и процессы самоочищения.

Для общей оценки санитарного состояния почвы определяют следующие показатели: общее микробное число, наличие *E. coli*, *Cl. perfringens*, *Bact. termophilus* и *Str. fecalis*.

Важно знать, что почва может являться резервуаром накопления возбудителей инфекционных болезней (столбняка, сибирской язвы и др.).

### **Вопросы самоконтроля**

1. Микрофлора воды.
2. Микрофлора воздуха
3. Микрофлора почвы.

### **СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. **Асонов, Н.Р.** Микробиология / Н.Р. Асонов. – М.: Колос, 2011. – 352 с.
2. **Гусев, М.В.** Микробиология / М.В. Гусев, Л.А. Минаева. – М.: Академия, 2008. – 464 с.
3. **Емцев, В.Т., Мишустин, Е.Н.** Микробиология / В.Т. Емцев, Е.Н. Мишустин. – М.: Дрофа, 2005. – 446 с.

#### *Дополнительная*

1. **Громов, Б.В.** Строение бактерий / Б.В. Громов.– Л.: Изд-во ЛГУ, 1985. – 189 с.
2. **Шлегель, Г.** Общая микробиология / Г. Шлегель.– М.: Мир, 1987, – 568 с.
3. **Котова, И.Б., Нетрусов, А.И.** Общая микробиология / И.Б. Котова
4. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии / А.А. Воробьев, [и др.]. – М.: Мастерство; Высшая школа, 2001. – 224 с.

**МИКРОФЛОРА ОРГАНИЗМА ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА**

Микрофлора человека и животных является результатом взаимного приспособления микро- и макроорганизма в процессе эволюции. Большая часть бактерий постоянной микрофлоры человеческого тела приспособилась к жизни в определённых его частях.

После рождения организм человека и животных вступает в контакт с различными микроорганизмами, которые проникают через дыхательные и пищеварительные пути и заселяют желудочно-кишечный тракт, половые и другие органы.

Кожные покровы, слизистые оболочки дыхательных путей, желудочно-кишечного и мочеполового трактов являются местом обитания различных микроорганизмов.

**17.1. Микрофлора кожи.** Постоянные обитатели кожи - кокки родов *Streptococcus*, *Staphilococcus*, *Micrococcus*, *Sarcina*. Наибольшее их количество находится вблизи сальных и потовых желез. Кроме них на коже обитают эшерихии, *Pseudomonas aeruginosa*, бациллы, актиномицеты, плесневые грибы. На поверхности кожи одного человека находили от 85 млн. до 1 млрд. особей микроорганизмов. Наиболее часто инфицируются открытые части человеческого тела, главным образом руки. Нарушение санитарно-гигиенического режима, условий труда и быта людей является причиной возникновения гнойничковых, грибковых поражений кожи.

У животных количество микробов на коже зависит от условий содержания: при плохом уходе на 1 см<sup>2</sup> поверхности кожи может находиться до 1 -2 млрд. микробных тел. Микрофлору вымени составляют преимущественно микрококки, стафилококки, стрептококки, коринебактерии. Внешняя кожа вымени из-за наличия грубых и мелких складок – место скопления практически всех микробов, которые обитают в животноводческих помещениях, на пастбищах, в подстилке, кормах, на руках доярки и др. объектах внешней среды. При недостаточно тщательной уборке и дезинфекции помещения можно обнаружить более 10<sup>5</sup> микробов на 1 см<sup>2</sup> кожи вымени, в результате чего вымя может стать одним из главных источников заражения выдоенного молока. Из патогенных микробов на коже вымени часто встречаются возбудители маститов (*Str. agalactiae*, *Str.uberis*, *Staph.aureus*) и колимаститов (*E.coli*, *Klebsiella aerogenes*, *Corynebacterium pyogenes*, *B.subtilis*, *Pseudomonas aeruginosae*).

**17.2. Микрофлора дыхательных путей.** Микробы попадают в дыхательные пути с первым вдохом новорожденного.

В норме альвеолы легких и бронхи свободны от бактерий. Микробы присутствуют в носовых ходах, гортани и начальных отделах трахеи. Наиболее многочисленны в дыхательных путях кокковые формы: стрепто-, диплококки, стафилококки, микрококки; встречаются пастереллы, клебсисиллы, дифтероиды, актиномицеты, микроскопические грибки. Кроме бактериальной микрофлоры в дыхательных путях в течении длительного периода могут сохраняться, не вызывая патологических процессов, многие вирусы, например, аденовирусы.

**17.3. Микрофлора желудочно-кишечного тракта.**

1) *Ротовая полость.* В полости рта благоприятные условия для микроорганизмов. Слюна является важным питательным субстратом для микробов. Она содержит аминокислоты, белки, липиды, углеводы, неорганические вещества. Через несколько часов после рождения ребёнка микробы могут размножаться в ротовой полости, а спустя несколько дней обнаруживаются отдельные виды стрептококков, стафилококков, микрококков, сарцин, *Spirochaeta dentum*, дифтероиды, молочнокислая флора, дрожжеподобные грибки, аспергиллы, актиномицеты и др. Количественный и видовой состав микробов ротовой полости находится в зависимости от диеты и возраста ребёнка. В ротовой полости обитают более 100 видов микроорганизмов. Наиболее постоянным обитателем полости рта является *Str.salivarius*, особенно его много на поверхности языка.

Большинство видов микроорганизмов полости рта - это аэробы и анаэробы. Вовремя прорезывания зубов появляются грамотрицательные анаэробы. В сохранении микробов в полости рта важную роль играют глюкопротеиды слюны, которые обуславливают накопление определённых бактерий на поверхности прорезывающихся зубов.

У животных разнообразие микроорганизмов зависит от вида животных, типа кормов и способов их применения. Например, при кормлении молоком преобладают молочнокислые микробы и микрофлора молока. При кормлении грубыми кормами травоядных животных количество микробов в ротовой полости невелико, при даче им сочных кормов оно возрастает в 10 раз.

2) *Пищевод.* В проксимальной части пищевода встречается микрофлора, характерная для полости рта. В дистальных отделах пищевода обнаруживают актиномицеты, грибки рода *Candida*, кишечные бактерии.

3) *Желудок.* При нормальном функционировании желудка микрофлора в нём почти отсутствует, т.к. бактерицидные свойства в нём резко выражены. Бактерицидными факторами, ограничивающими численность микробов в этом отделе желудочно-кишечного тракта, является кислая рН, действие соляной кислоты и протеолитических ферментов. Из рта в желудок поступают вместе с пищей и могут выдерживать кислую рН среды споровые бактерии типа *B.subtilis*, кислотоустойчивые *Micobacterium bovis*, *M.avium*, молочно-кислые бактерии, некоторые сарцины (*Sarcina ventriculus*), актиномицеты, энтерококки. Степень кислотности желудочного сока не всегда бывает постоянной; она меняется в зависимости от характера пищи и количества употребляемой человеком воды. При понижении кислотности или заболевании желудка в его содержимом находят гнилостных микробов, дрожжей, грибов, плесеней. В некоторых случаях возможно проникновение в желудок, а затем и в кишечник дизентерийных, брюшнотифозных, паратифозных бактерий, холерных вибрионов и др. патогенных микробов.

У свиньи в желудке обитают главным образом молочно-кислые бактерии и кокки, сбраживающие углеводы, актиномицеты дрожжи, спорообразующие аэробы, *Cl.perfringens*. Микрофлора желудка лошади более многочисленней, на дне желудка молочнокислые бактерии и нет гнилостных.

Микрофлора рубца жвачных более богата. Здесь много гнилостными бактериями и возбудителями различных брожений, почвенная и эпифитная микрофлора, целлюлозоразрушающие микробы: *Ruminococcus flavefaciens*, *R.albus*, *Cl.cellobioparum*, *Cl.celloyticum* и др. Эти микроорганизмы переваривают клетчатку с помощью фермента целлюлазы до глюкозы, которая легко усваивается. Пектиновые вещества расщепляют *B.marcescens*, *Amilobacter*, *Granulobacter pectinovorum*. Пропионовокислые бактерии (*Propionipectinovorum*, *Veillonella*, *Butyribacterium*) сбраживают лактаты с образованием пропионовой кислоты, частично масляной и уксусной кислоты, продуцируют витамины группы В. Микробы, заселяющие рубец, расщепляют белки, нитраты, мочевины, синтезируют все витамины, кроме А, Е, D. Число бактерий в 1 мл содержимого рубца от 1 тыс. до 10 млн. м.кл.

4) *Кишечник. Тонкий кишечник.* Количество бактерий в тонком кишечнике значительно меньше, чем в толстом. Причинами этого являются перистальтические движения, наличие иммуноглобулинов класса А (JgA), желчных кислот. В тонком кишечнике обитают *E. coli*, *Bacillus*, *Str.faecalis* устойчивые к желчи энтерококки, клостридии и актиномицеты. У животных ослабляется деятельность целлюлозоразрушающих бактерий.

*Толстый кишечник.* Этот орган занимает первое место по видовому и количественному составу микроорганизмов. Кишечный тракт новорождённых стерилен в первые часы жизни. В течение первых суток он населяется микрофлорой грудного молока, в дальнейшем устанавливается бактериальная флора, состоящая из молочнокислых бактерий (бифидобактерии, *Lactobacillus acidophilus*), на 3-5 сутки в кишечнике у грудных

детей можно встретить энтерококки и *E.coli*. В составе кишечника взрослых людей 260 видов микроорганизмов. В 1 мл кишечного содержимого насчитывается до  $30^{13}$  микробных тел. Обилие микроорганизмов объясняется наличием в больших объемах переваренной пищи. Треть суховещества фекальных масс – микробы. Обитающие в толстом кишечнике микробы на 96-99 % относятся к анаэробным бактериям (бифидобактерии, бактероиды), факультативно анаэробная микрофлора представлена эшерихиям, молочнокислым бактериям (*Lactobacillus*), энтерококкам (1-4%), 0,01 – 0,001 % составляет остаточная микрофлора (*Staphilococcus*, *Clostridium*, *Proteus*, дрожжи (*Candida*)). Также встречаются бактерии рода *Bacillus*, *Actinomyces*, плесневые грибки. В кишечнике обитают энтеровирусы, которые длительное время находятся у здоровых людей в латентном состоянии. При неблагоприятных условиях они в ассоциации с некоторыми видами бактерий обуславливают различные заболевания. В кишечнике человека кроме непатогенных, выявлены патогенные серовары *E.coli*, которые вызывают эшерихиозы. Стойкое нарушение качественного и количественного состава микрофлоры кишечника называется дисбактериозом. Последствия дисбактериоза — хроническая дисфункция желудочно-кишечного тракта, истощение, нарушение обмена веществ и др. Явление дисбактериоза характерно не только для кишечника, но и для других анатомических образований, заселенных микроорганизмами, например, дисбактериоз влагалища. Причиной дисбактериоза могут быть неадекватная антибиотикотерапия, нарушения, приводящие к изменению слизистых оболочек, инвазии, и т.п. Основным принципом коррекции дисбактериозов—применение эу- или пробиотиков (лактобактерии, бифидобактерии и др.).

У здоровых животных наряду с нормальной микрофлорой в ряде случаев обнаруживаются патогенные микроорганизмы – возбудители столбняка, инфекционного аборта кобыл, сибирской язвы, пастерелллёза, сальмонелллёза.

#### **17.4. Микрофлора мочеполовой системы.**

Верхние отделы мочеполовой системы (почки, мочеточники, мочевого пузыря, матка, яичники, семенники, придаточные половые железы) в норме стерильны. Микроорганизмы обнаруживаются в основном в преддверии и первой трети влагалища, конечных участках уретры. В состав микрофлоры мочеполовой системы входят *E. coli*, *Bacterium vaginale vulgare*, дифтероиды, *Staphilococcus epidermitis*, негемолитические стрептококки, микрококки, молочнокислые бактерии, *Mycobacterium smegmatis*, микроскопические грибки.

#### **Вопросы самоконтроля**

1. Микрофлора кожи.
2. Микрофлора дыхательных путей
3. Микрофлора желудочно-кишечного тракта.
4. Микрофлора мочеполовой системы.

#### **СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. **Асонов, Н.Р.** Микробиология / Н.Р. Асонов. – М.: Колос, 2011. – 352 с.
2. **Гусев, М.В.** Микробиология / М.В. Гусев, Л.А. Минаева. – М.: Академия, 2008. – 464 с.
3. **Емцев, В.Т., Мишустин, Е.Н.** Микробиология / В.Т. Емцев, Е.Н. Мишустин. – М.: Дрофа, 2005. – 446 с.

#### *Дополнительная*

1. **Громов, Б.В.** Строение бактерий / Б.В. Громов.– Л.: Изд-во ЛГУ, 1985. – 189 с.
2. **Шлегель, Г.** Общая микробиология / Г. Шлегель.– М.: Мир, 1987, – 568 с.
3. **Котова, И.Б., Нетрусов, А.И.** Общая микробиология / И.Б. Котова
4. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии / А.А. Воробьев, [и др.]. – М.: Мастерство; Высшая школа, 2001. – 224 с.

**ИНФЕКЦИЯ****18.1. Понятие инфекция и инфекционный процесс, классификация инфекционных болезней и инфекций.**

Инфекция (латинск. infectio — заражение) — это состояние заражённости, при котором развивается эволюционно сложившийся комплекс биологических реакций взаимодействия макроорганизма и патогенных микробов. Состоянию инфекции предшествует внедрение, размножение и распространение микроорганизмов в организме. Инфекционный процесс — динамическое развитие биологических реакций макроорганизма. Проявление инфекционного процесса — инфекционная болезнь. Инфекционные заболевания распространены во всём мире. Известно около 3 тыс. инфекционных болезней, которыми может заболеть человек. Возбудителями их являются различные микроорганизмы: бактерии, простейшие, риккетсии, вирусы, актиномицеты (актиномицеты — лучистые грибки, совмещают в себе черты бактерий и простейших грибов), спирохеты.

В зависимости от локализации микроорганизмов, Л.В. Громашевским была предложена классификация инфекционных болезней. В соответствии с этим основным признаком все инфекционные болезни разделены на 4 группы: 1) кишечные инфекции; 2) инфекции дыхательных путей; 3) кровяные инфекции; 4) инфекции наружных покровов.

*1. Кишечные инфекции.* Для кишечных инфекций характерна локализация возбудителей в кишечнике, которые проникают в организм через рот, чаще с пищей или водой, затем с испражнениями попадают во внешнюю среду. Подъём заболеваемости кишечными инфекциями наблюдается в теплое время года, что обусловлено увеличением численности мух, употреблением человеком большого количества плохо промытых овощей и фруктов. К кишечным инфекциям относятся: брюшной тиф, холера, дизентерия, сальмонеллез, вирусный гепатит А, паратифы, бруцеллез, ботулизм и др. Основными способами борьбы с кишечными инфекциями являются соблюдение личной гигиены, мытье рук, своевременное выявление и изоляция больных и носителей.

*2. Инфекции дыхательных путей,* которые передаются воздушно-капельным или воздушно-пылевым путем. При инфекциях дыхательных путей возбудители локализуются в слизистых оболочках дыхательных путей и отсюда с капельками слизи выделяются при выдохе, кашле, чихании, разговоре и даже плаче и передаются здоровым людям. В связи с тем, что инфекции дыхательных путей легко передаются от больного человека и носителя здоровому, некоторыми из них переболевает почти все население, а иногда и по несколько раз. Часть болезней выделена в подгруппу детских инфекций (дифтерия, скарлатина, корь, коклюш, эпидемический паротит, ветряная оспа, краснуха), которыми переболевают чаще в детском возрасте. К инфекциям дыхательных путей также относятся: ангина, грипп, парагрипп, менингококковая инфекция, аденовирусные инфекции. При таких инфекциях важно своевременное выявление больных и носителей, а также проведение мероприятий, направленных на разрыв механизма передачи возбудителей: борьба со скученностью, аэрация и кварцевание помещений, ношение масок, дезинфекция и т.д.

*3. Кровяные инфекции, или трансмиссивные.* К этой группе относятся инфекционные болезни, возбудители которых проникают в ток крови при укусе насекомых или животных. К этим инфекциям относятся: сыпной тиф, гемморагические лихорадки, чумы, вирусные гепатиты В и С, вирусные энцефалиты, туляремия. Для профилактики некоторых болезней этой группы применяется вакцинация (гепатит В).

*4. Инфекции наружных покровов.* Контактный механизм передачи. Заражение наружных покровов происходит при попадании патогенных микробов на кожу или слизистые оболочки здорового человека. При одних инфекциях возбудитель локализуется в месте входных ворот, при других — поражает кожные покровы, проникает в организм и

с током крови попадает в различные органы и ткани (сибирская язва, рожа). При инфекциях половых органов возбудители передаются половым путем (гонорея, сифилис). Основными мероприятиями по борьбе с инфекциями наружных покровов являются: изоляция больных, уничтожение больных животных, проведение санитарно-просветительской работы среди населения, соблюдение правил личной гигиены.

Проявления инфекции весьма разнообразны и зависят от свойств микроорганизмов, от состояния макроорганизма, от условий окружающей среды. Инфекционный процесс может проявиться в форме инфекционной болезни. Если инфекционный процесс не дает видимых клинических проявлений болезни, то говорят о скрытой форме инфекции (бессимптомное течение инфекционного гепатита). Это приводит к состоянию носительства. При заражении большое значение имеет инфицирующая доза (ИД) — эта доза выражает минимальное количество патогенных микроорганизмов, попавших в макроорганизм, при которой начинается заболевание. Например ИД для стафилококка— 10<sup>3</sup>, ИД для холерного вибриона— 10<sup>8</sup>~<sup>10</sup>. ИД снижается при иммунодефицитах человека. Инфекция, вызванная одним микробом, называется простой инфекцией, двумя или более видами — смешанной. Повторное заражение одним и тем же возбудителем называется реинфекцией. Инфекции делятся по форме на: 1) бактериальную, вирусную, грибковую, протозойную; 2) экзогенную, эндогенную; 3) местную (очаговую), общую (генерализованную): бактериемия и вирусемия, септицемия, сепсис; 4) моноинфекции, смешанные инфекции, реинфекции; 5) острую, хроническую, бактерионосительство; 6) бессимптомную или с выраженными клиническими проявлениями (манифестную); 7) антропонозы, зоонозы.

**18.2. Периоды инфекционного процесса.** В развитии инфекционного процесса можно выделить несколько периодов: 1. *Инкубационный период* — это время, прошедшее с момента попадания микроорганизма в макроорганизм до появления первых клинических признаков заболевания. Этот период может быть различным по продолжительности и зависит в основном от вида возбудителя. Например, при кишечных инфекциях инкубационный период не длительный — от нескольких часов до нескольких суток. При других инфекциях (грипп, ветряная оспа, коклюш) — от нескольких недель до нескольких месяцев. Но есть и такие инфекции, при которых инкубационный период длится несколько лет: лепра, ВИЧ-инфекция, туберкулез. В этом периоде происходит адгезия клеток и, как правило, возбудители не выявляются. 2. *Продромальный период* — в этот период идет колонизация возбудителя на чувствительных клетках организма. В этот период появляются первые предшественники заболевания (повышается температура, снижаются аппетит и работоспособность и др.), микроорганизмы образуют ферменты и токсины, которые приводят к местным и генерализованным воздействиям на организм. При таких заболеваниях, как брюшной тиф, оспа, корь, продромальный период очень характерен и тогда уже в этом периоде врач может поставить предварительный диагноз. В этом периоде, как правило, возбудитель не выявляется, кроме коклюша и кори. 3. *Период развития заболевания* — в этот период идет интенсивное размножение возбудителя, проявление всех его свойств, максимально проявляются клинические проявления, характерные для данного возбудителя (пожелтение кожных покровов при гепатите, появление характерной сыпи при краснухе и т. д.). В этот период формируется защитная реакция макроорганизма в ответ на патогенное действие возбудителя, продолжительность этого периода также бывает различной и зависит от вида возбудителя. Например, туберкулез, бруцеллез текут долго, несколько лет — их называют хроническими инфекциями. При большинстве инфекций этот период является самым заразным. В разгар заболевания больной человек выделяет в окружающую среду очень много микробов. Период клинических проявлений заканчивается выздоровлением или смертью больного. Летальный исход может наступить при таких инфекциях, как менингит, грипп, чума и др. Степень выраженности клинического течения заболевания может быть разной. Болезнь может протекать в тяжелой или легкой форме. А иногда

клиническая картина может быть вообще нетипичной для данной инфекции. Такие формы заболевания называют атипичными, или стертыми. Поставить диагноз в таком случае трудно и тогда используются микробиологические методы исследования.

4. *Период выздоровления (реконвалесценция)* — в этот период погибают возбудители, нарастают иммуноглобулины класса G и A. В этот период может развиваться бактерионосительство: в организме могут сохраняться антигены, которые длительно будут циркулировать по организму. Период выздоровления сопровождается снижением температуры, восстановлением работоспособности, повышением аппетита. В этот период из организма больного выводятся микробы (с мочой, испражнениями, мокротой). Продолжительность периода выделения микробов неодинакова при различных инфекциях. Например, при ветрянке, сибирской язве больные освобождаются от возбудителя при исчезновении клинических проявлений болезни. При других болезнях этот период продолжается 2—3 недели.

**18.3. Механизмы передачи инфекции.** Выделяют 4 группы механизма передачи инфекции.

1. *Контактный путь передачи* (через наружный покров) - возбудители болезни передаются через соприкосновение больного или его выделений со здоровым человеком (сибирская язва, столбняк).
2. *Фекально-оральный (алиментарный) механизм передачи* - возбудители болезней выделяются из организма людей с фекалиями, а заражение происходит через рот с пищей и водой, загрязненными фекалиями (брюшной тиф, паратифы, холера, дизентерия, бруцеллез, полиомиелит). Наиболее частый.
3. *Воздушно-капельный механизм* — передача возбудителя через воздух происходит при инфекционных болезнях, локализующихся преимущественно в дыхательных путях: корь, коклюш, эпидемический менингит, грипп, натуральная оспа, легочная форма чумы, дифтерия, скарлатина.
4. *Трансмиссивно* — возбудитель передаётся при помощи переносчиков — кровососущих членистоногих. Насосавшись крови у больного человека или животного, содержащей возбудителей, переносчик остается заразным длительное время. Нападая затем на здорового человека, переносчик заражает его. Таким образом блохи передают чуму, вши — сыпной и возвратный тифы, клещи — энцефалит

#### **18.4. Патогенность и вирулентность. Факторы патогенности.**

Чтобы вызвать заболевание, микроорганизмы должны быть патогенными (болезнетворными). Патогенность микроорганизмов — это генетически обусловленный признак, который передается по наследству, это потенциальная способность определенного вида бактерий вызывать инфекционный процесс. Для того чтобы вызвать инфекционную болезнь, патогенные микробы должны проникать в организм в определенной инфицирующей дозе (ИД). В естественных условиях для возникновения инфекции патогенные микробы должны проникать через определенные ткани и органы организма. Степень патогенности или болезнетворности микроорганизмов называется «вирулентностью». У патогенных микроорганизмов вирулентность обусловлена: 1) адгезией — это способность микроорганизмов прикрепляться к органам и тканям хозяина. За адгезию отвечают пили и другие рецепторы — у стафилококков белок А, у стрептококков белок М. Эти структуры, ответственные за прилипание к клеткам хозяина, называются «адгезинами». При отсутствии адгезинов инфекционный процесс не развивается; 2) инвазией — это способность внедряться во внутреннюю среду организма хозяина и распространяться по его органам и тканям. Микроорганизмы способны вырабатывать различные ферменты агрессии, для преодоления защитных барьеров макроорганизма. К ним относятся: нейраминидаза — фермент, который расщепляет биополимеры, которые входят в состав поверхностных рецепторов клеток слизистых оболочек. Это делает оболочки доступными для воздействия на них микроорганизмов; гиалуронидаза — действует на межклеточное и межтканевое пространство. Это способствует проникновению микробов в ткани организма; дезоксирибонуклеаза (ДНКаза) — фермент, который деполимеризует ДНК, и др. Ферменты микроорганизмов могут действовать местно и генерализованно. Большую роль в преодолении

межклеточных барьеров играют жгутики бактерий; 3) капсулообразованием — это способность микроорганизмов образовывать на поверхности капсулу, которая защищает бактерии от клеток фагоцитов организма хозяина (пневмококки, чума, стрептококки). Если капсул нет, то образуются другие структуры: например, у стафилококка — белок А, с помощью этого белка стафилококк взаимодействует с иммуноглобулинами. Такие комплексы препятствуют фагоцитозу. Или же микроорганизмы вырабатывают определенные ферменты: например, плазмокоагулаза приводит к свертыванию белка, который окружает микроорганизм и защищает его от фагоцитоза; 4) токсинообразованием — способность микроорганизмов вырабатывать яды. По своим свойствам токсины делятся на эндотоксины и экзотоксины. *Экзотоксины* — это вещества белковой природы, обладают выраженными иммуногенными и антигенными свойствами. Они состоят из двух фрагментов — А и В. В-фрагмент способствует адгезии и инвазии; А-фрагмент обладает выраженной активностью по отношению к внутренним системам клетки. По типу действия экзотоксины делятся на: А. Цитотоксины — блокируют синтез белка в клетке (дифтерия, шигеллы); Б. Мембранотоксины — действуют на мембраны клеток (лейкоцидин стафилококка действует на мембраны клеток фагоцитов или стрептококковый гемолизин действует на мембрану эритроцитов). Наиболее сильные экзотоксины вырабатывают возбудители столбняка дифтерии, ботулизма. Характерной особенностью экзотоксинов является их способность избирательно поражать определенные органы и ткани организма. Например, экзотоксин столбняка поражает двигательные нейроны спинного мозга, а дифтерийный экзотоксин поражает сердечную мышцу и надпочечники. Для профилактики и лечения токсинемических инфекций применяются анатоксины (обезвреженные экзотоксины микроорганизмов) и антитоксические сыворотки. *Эндотоксины* — тесно связаны с телом микробной клетки и освобождаются при ее разрушении. Эндотоксины не обладают таким выраженным специфическим действием, как экзотоксины, а также менее ядовиты. Не переходят в анатоксины. Эндотоксины являются суперантигенами, они могут активизировать фагоцитоз, аллергические реакции. Эти токсины вызывают общее недомогание организма, их действие не отличается специфичностью. Независимо от того, от какого микроба получен эндотоксин, клиническая картина однотипна: это, как правило, лихорадка и тяжелое общее состояние. Выброс эндотоксинов в организм может привести к развитию инфекционно-токсического шока.

#### Вопросы самоконтроля

1. Понятие инфекция и инфекционный процесс.
2. Классификация инфекционных болезней и инфекций.
3. Периоды инфекционного процесса.
4. Механизмы передачи инфекции.
5. Патогенность и вирулентность. Факторы патогенности.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Асонов, Н.Р.** Микробиология / Н.Р. Асонов. – М.: Колос, 2011. – 352 с.
3. **Гусев, М.В.** Микробиология / М.В. Гусев, Л.А. Минаева. – М.: Академия, 2008. – 464 с.
4. **Емцев, В.Т., Мишустин, Е.Н.** Микробиология / В.Т. Емцев, Е.Н. Мишустин. – М.: Дрофа, 2005. – 446 с.

#### Дополнительная

1. **Громов, Б.В.** Строение бактерий / Б.В. Громов. – Л.: Изд-во ЛГУ, 1985. – 189 с.
2. **Шлегель, Г.** Общая микробиология / Г. Шлегель. – М.: Мир, 1987, – 568 с.
3. **Котова, И.Б., Нетрусов, А.И.** Общая микробиология / И.Б. Котова
4. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии / А.А. Воробьев, [и др.]. – М.: Мастерство; Высшая школа, 2001. – 224 с.

## ПАТОГЕННОСТЬ И ВИРУЛЕНТНОСТЬ

Чтобы возникла инфекционная болезнь, необходимо наличие возбудителя, обладающего патогенностью вообще и вирулентностью в частности. Одинаковы ли эти понятия? Патогенность микроба — видовой генетический признак, его потенциальная возможность вызвать при благоприятных условиях инфекционный процесс. По этому признаку все существующие микроорганизмы подразделяют на патогенные, условно-патогенные и сапрофиты. Фактически все возбудители инфекционных болезней являются патогенными, но далеко не все из них способны вызвать инфекционную болезнь, чтобы это произошло, микроорганизм, хотя и принадлежащий к патогенному виду, должен обладать вирулентностью. Поэтому нельзя ставить знак равенства между патогенностью и вирулентностью.

Микроорганизм считается вирулентным, если он при внедрении в организм животного, даже в исключительно малых дозах, приводит к развитию инфекционного процесса. Никто не сомневается в патогенности сибиреязвенной бациллы, между тем среди культур этого микроба изредка, но встречаются авирулентные штаммы, не способные вызвать заболевания у овец и даже кроликов. Бактерии рожи свиней принадлежат к патогенному виду, но немало разновидностей этого микроба было выделено из организма совершенно здоровых свиней, индеек, рыб.

### 19.1 Свойства патогенности и вирулентности

**ПАТОГЕННОСТЬ** (Pathogenicity) - видовое свойство возбудителя, характеризующее его способность размножиться и вызывать те или иные патологические изменения в организме без дополнительной адаптации. В вирусологии понятие патогенность относится к типу вируса и означает, что данное свойство представлено у всех штаммов (изолятов) этого типа. Понятию патогенность не противоречит тот факт, что высокоаттенуированные штаммы практически утратили многие отличительные черты своего типа, т. е. оказались лишенными способности к патологическому воздействию на организм хозяина. Патогенность обычно описывается только качественными признаками

**ВИРУЛЕНТНОСТЬ** — это степень патогенности конкретного микроорганизма. Ее можно измерить. За единицу измерения вирулентности условно приняты летальная и инфицирующая дозы. Минимальная смертельная доза — DLM (Dosis letalis minima) — это наименьшее количество живых микробов или их токсинов, вызывающее за определенный срок гибель большинства взятых в опыт животных определенного вида. Но поскольку индивидуальная чувствительность животных к патогенному микробу (токсину) различна, то была введена безусловно смертельная доза — DCL (Dosis certa letalis), вызывающая гибель 100 % зараженных животных. Наиболее точной является средняя летальная доза — LD50, т. е. наименьшая доза микробов (токсинов), убивающая половину животных в опыте. Для установления летальной дозы следует принимать во внимание способ введения возбудителя, а также массу и возраст подопытных животных, например, белые мыши — 16—18 г, морские свинки — 350 г, кролики — 2 кг. Таким же образом определяют инфицирующую дозу (ID), т. е. количество микробов или их токсинов, которое вызывает соответствующую инфекционную болезнь.

Высоковирулентные микроорганизмы способны вызвать заболевание животных или человека в самых малых дозах. Так, например, известно, что 2—3 микобактерии туберкулеза при введении в трахею вызывают у морской свинки туберкулез со смертельным исходом. Вирулентные штаммы сибиреязвенной бациллы в количестве 1—2 клеток могут вызвать смерть у морской свинки, белой мыши и даже крупного животного.

У одного и того же микроорганизма вирулентность может значительно колебаться. Это зависит от ряда биологических, физических и химических факторов, воздействующих

на микроорганизм. Вирулентность микроорганизма можно повысить или понизить искусственными приемами.

Длительное выращивание культур вне организма на обычных питательных средах, выращивание культур при максимальной температуре (опыты Л. Пастера и Л. С. Банковского), добавление к культурам антисептических веществ (двухромовокислый калий, карболовая кислота, щелочь, сулема, желчь и т. д.) ослабляют вирулентность микроорганизмов.

Пассирование (последовательное проведение) возбудителя какой-либо инфекционной болезни через определенный вид животного от зараженного к здоровому, например возбудителя рожи свиней через организм кролика, ослабляет вирулентность для свиней, но усиливает ее для самих кроликов. Действие бактериофага (биологический фактор) может привести к ослаблению вирулентности микроорганизмов.

Усиление вирулентности под действием протеолитических ферментов можно наблюдать у *Cl. perfringens* при естественной ассоциации с возбудителями гниения (например, сарцинами) или при искусственном воздействии ферментом животного происхождения (например, трипсином).

Связан этот эффект со способностью протеаз активизировать протоксины, т. е. предшественники эпсилон-токсина типов В и D и йота-токсина типа E *Cl. perfringens*.

Вирулентность микроорганизмов связана с токсигенностью и инвазивностью.

Токсигенность (греч. *toxicum* — яд и лат. *genus* — происхождение) — способность микроба образовывать токсины, которые вредно действуют на макроорганизм, путем изменения его метаболических функций.

Инвазивность (лат. *invasio* — нашествие, нападение) — способность микроба преодолевать защитные барьеры организма, проникать в органы, ткани и полости, размножаться в них и подавлять защитные средства макроорганизма. Инвазионные свойства патогенных бактерий

обеспечиваются за счет микробных ферментов (гиалуронидаза), капсул и других химических компонентов микробов.

## **19.2 Основные факторы вирулентности микробов.**

Под факторами вирулентности понимают приспособительные механизмы возбудителей инфекционных болезней к меняющимся условиям макроорганизма, синтезируемые в виде специализированных структурных или функциональных молекул, при помощи которых они участвуют в осуществлении" инфекционного процесса. По функциональному значению их разделяют на четыре группы: 1) микробные ферменты, деполимеризующие структуры, препятствующие проникновению и распространению возбудителя в макроорганизме; 2) поверхностные структуры бактерий, способствующие закреплению их в макроорганизме; 3) поверхностные структуры бактерий, обладающие антифагоцитарным действием; 4) факторы патогенности с токсической функцией.

К первой группе относятся:

*Гиалуронидаза.* Действие этого фермента в основном сводится к повышению проницаемости тканей. Кожа, подкожная клетчатка и межмышечная клетчатка содержат мукополисахариды и гиалуроновую кислоту, которые замедляют проникновение через эти ткани чужеродных веществ, даже в жидком состоянии. Гиалуронидаза способна расщеплять мукополисахариды и гиалуроновую кислоту, в результате чего повышается проницаемость тканей и микроорганизм свободно продвигается вглубьлежащие ткани и органы животного организма. Синтезируют этот фермент бру-целлы, гемолитические стрептококки, клостридии и другие микроорганизмы.

*Фибринолизин.* Некоторые штаммы гемолитического стрептококка, стафилококков, иерсиний синтезируют фибринолизин, который разжижает плотные сгустки крови (фибрин). Гиалуронидаза и фибринолизин увеличивают способность патогенных микробов генерализировать процесс и устраняют химико-механические препятствия на пути внедрения микробов в глубь тканей.

*Нейраминидаза* отщепляет от различных углеводов связанные с ними гликозидной связью концевые сиаловые кислоты, которые деполимеризуют соответствующие поверхностные структуры эпителиальных и других клеток организма, разжижают носовой секрет и муцинозный слой кишечника. Синтезируется она пастереллами, иерсиниями, некоторыми клостридиями, стрепто-, диплококками, вибрионами др.

ДНК-азы (дезоксирибонуклеаза) деполимеризуют нуклеиновую кислоту, обычно появляющуюся при разрушении лейкоцитов в воспалительном очаге на месте внедрения микробов. Продуцируется фермент стафилококками, стрептококками, клостридиями и некоторыми другими микробами.

*Коллагеназа* гидролизует входящие в состав коллагена, желатина и других соединений пептиды, содержащие пролин. В результате расщепления коллагеновых структур наступает расплавление

по мышечной ткани. Вырабатывают фермент клостридии злокачественного отека, особенно сильно *Clostridium histolyticum*.

*Коагулаза*. Цитратная или оксалатная кровяная плазма человека и животных быстро свертывается вирулентными штаммами золотистого стафилококка, таким же свойством обладают некоторые штаммы кишечной палочки и сенной бациллы. Свертывание цитратной или оксалатной крови происходит вследствие выработки перечисленными микроорганизмами фермента коагулазы.

Вторая группа включает в себя патогенные микроорганизмы, у которых обнаружены ворсинки, жгутики, пили, рибитотейхоевые и липотейхоевые кислоты, липопротеиды и липополисахариды, способствующие закреплению их в макроорганизме. Это явление названо адгезией, т. е. способностью микроба адсорбироваться (прилипнуть) на чувствительных клетках. Адгезивность хорошо выражена у эшерихий (штаммы К-88, К-99), которые продуцируют соответствующие белковые антигены, позволяющие бактериям прикрепляться к слизистой тонких кишок, накапливаться здесь в больших количествах, продуцировать токсины и таким образом поражать макроорганизм.

Третья группа включает в себя бактерии, содержащие поверхностные структуры, обладающие антифагоцитарным действием. К ним относятся А-протеин золотистого стафилококка, М-протеин пиогенного стрептококка, vi-антиген сальмонелл, липиды корд-фактора микобактерий туберкулеза и др. Механизм антифагоцитарного действия этих микробов объясняют не токсигенностью, а способностью блокировать антитела (опсонины) или отдельные фракции комплемента (например, С3), способствующие фагоцитозу.

Бациллы сибирской язвы, пневмококки могут синтезировать выраженную капсулу, хорошо заметную в мазках-отпечатках, приготовленных из свежего патологического материала или из культур, выращенных на сывороточных средах. Доказано, что капсульное вещество — полисахарида у пневмококков, полипептид d-глутаминовой кислоты у сибиреязвенной бациллы — не простая механическая преграда для бактерицидных соков организма, химических, лекарственных веществ, антибиотиков; капсула и ее вещество защищают бактерии от переваривания. Капсула подавляет фагоцитоз бактерий, обеспечивает их устойчивость к антителам и усиливает их инвазионные свойства. Например, капсулообразующие сибиреязвенные бациллы не подвергаются фагоцитозу, в то время как бескапсульные варианты легко фагоцитируются.

Данный фактор патогенности сибиреязвенного микроба настолько важен, что его используют в качестве критерия для оценки степени вирулентности возбудителя сибирской язвы, а в медицинской и ветеринарной практике успешно используют вакцины (СТИ и ВГНКИ) против этой болезни, представляющие собой взвесь жизнеспособных спор бескапсульных штаммов сибиреязвенных бацилл.

К этой же группе факторов патогенности можно отнести нетоксичные неантигенные капсульные структуры некоторых стрептококков- (например, группы А), построенные из гиалуроновой кислоты. Ввиду общности с межклеточным веществом

макроорганизма они, вероятно, не распознаются хозяином и остаются нефагоцитированными.

Четвертая группа включает в себя токсины. Среди токсинов микробного происхождения различают экзо- и эндотоксины. Экзотоксины — высокоактивные яды, выделяемые микроорганизмом на протяжении его жизни в качестве продуктов обмена в окружающую среду (организм животного, пробирка с культурой микроба). Эндотоксины — менее ядовитые по сравнению с экзотоксинами вещества, образующиеся в результате распада микробной клетки. Следовательно, эндотоксины представляют собой фрагменты или отдельные химические компоненты микробных клеток.

Экзотоксины в основном образуют грамположительные микроорганизмы (возбудители ботулизма, столбняка, газовой инфекции и др.), а эндотоксины образуют клетки грамотрицательных микробов (сальмонеллы, кишечная палочка, протей и др.). Сравнительная характеристика экзотоксинов и эндотоксинов следующая:

### **20.3. Экзотоксины**

Легко диффундируют в окружающую среду из микробных клеток

Яды исключительно высокой активности. Избирательно поражают отдельные органы и ткани

Обнаруживают выраженные антигенные свойства, вызывают образование в организме антитоксинов

В химическом отношении представляют собой протеины, обладают свойствами ферментов, некоторые получены в кристаллическом состоянии

Термолабильны

Быстро разрушаются протеолитическими ферментами при 38—40 °С

При действии формалина 0,3—0,4 % переходит в анатоксины

### **20.4 Эндотоксины**

Прочно связаны с неразрушенным телом микробной клетки

Менее ядовиты. Избирательного поражения не наблюдается или оно слабо выражено

Слабые антигены; антисыворотки обладают невысокой активностью

Могут быть протеинами и различными химическими комплексами — глюколипоидами, полисахаридолипоидо-протеинами

Термостабильны

Сравнительно устойчивы к действию протеолитических ферментов

При действии формалина токсичность мало понижается

*Гемолизины.* Некоторые микроорганизмы (стрептококки, стафилококки) продуцируют экзотоксины (гемолизины), растворяющие эритроциты крови. Бактерийные гемолизины следует отличать от иммуногемолизинов, которые возникают в организме и обнаруживаются в сыворотке крови животных при иммунизации последних эритроцитами.

Различают альфа-, бета- и дельта-бактерийные гемолизины.

Альфа-гемолизины вызывают гематометаморфоз железа эритроцитов (переход гемоглобина в метгемоглобин). В результате этого образуются зеленые продукты, которые окрашивают кровяной агар вокруг колонии растущего микроба в зеленый или грязно-зеленый цвет. Этим свойством обладает зеленающий стрептококк.

Бета-гемолизины целиком растворяют эритроциты крови; они нарушают адсорбционную связь между гемоглобином и стромой эритроцитов. Поэтому кровь гемолизируется, становится прозрачной, лаковой. К микроорганизмам, вырабатывающим гемолизины, относятся возбудители листериоза, гемолитические стрептококки, стафилококки, которые формируют на кровяном агаре вокруг колоний бесцветную прозрачную гемолитическую зону, иногда значительно превышающую диаметр колоний.

Дельта-гемолизин разрушает эритроциты человека и некоторых животных. Вырабатывается патогенными стафилококками. Отличие бактериальных гемолизинов заключается в неодинаковом механизме повреждающего действия.

*Лейкоцидин.* Установлено, что некоторые грамположительные кокки (стафилококки, стрептококки) могут вырабатывать особый вид экзотоксина-лейкоцидин, парализующий активность лейкоцитов и разрушающий их.

Нейротоксины обладают выраженной тропностью: к центральной нервной ткани (тетанолизин — токсин столбнячного микроба); к периферической ткани (ботулинические нейротоксины); к отдельным звеньям симпатической нервной системы, нсй-рогуморальной системе и др.

Энтеротоксины — белки, вызывающие расстройства желудочно-кишечного тракта у животных. Способность энтероток-синов повышать проницаемость сосудов и выход жидкости, ионов натрия и хлоридов кальция в просвет кишечника приводит к нарушению обменных процессов и развитию диарей. Энтеротоксины (экзотоксины) обнаружены у эшерихий, стафилококков и других микроорганизмов.

*Некротоксин* (гистотоксин) приводит ткань к омертвлению, тормозит теплорегуляцию, понижая температуру тела. Это полисахаридо-липоидные экзокомплексы, вырабатываемые сальмонеллами, коринс-бактериями, кокками, анаэробами, нередко изменяют содержание сахара в крови, изъязвляют слизистую оболочку тонких кишок, что обуславливает появление кровавых диарей. Гистотоксины при внут-рикожном введении приводят к деструкции клеток системы мононук-леарных фагоцитов или активации протеолитических ферментов.

Таким образом, факторы вирулентности приводят основные системы организма к дисфункции, в силу чего последний погибает. Однако нельзя думать, что каждый вирулентный штамм патогенных микроорганизмов обладает всей суммой указанных факторов вирулентности: одного-двух из них иногда бывает достаточно/

### Вопросы для самоконтроля:

1. Что такое вирулентность?
2. Что такое патогенность?
3. Назовите и опишите факторы патогенности.
4. Свойства экзотоксинов.
5. Свойства эндотоксинов.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

#### *Основная*

1. **Асонов, Н.Р.** Микробиология / Н.Р. Асонов. – М.: Колос, 2011. – 352 с.
2. **Гусев, М.В.** Микробиология / М.В. Гусев, Л.А. Минаева. – М.: Академия, 2008. – 464 с.
3. **Емцев, В.Т., Мишустин, Е.Н.** Микробиология / В.Т. Емцев, Е.Н. Мишустин. – М.: Дрофа, 2005. – 446 с.

#### *Дополнительная*

1. **Шлегель, Г.** Общая микробиология / Г. Шлегель.– М.: Мир, 1987, – 568 с.
2. **Котова, И.Б., Нетрусов, А.И.** Общая микробиология / И.Б. Котова
3. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии / А.А. Воробьёв, [и др.]. – М.: Мастерство; Высшая школа, 2001. – 224 с.

**ВОЗБУДИТЕЛИ ЗАБОЛЕВАНИЙ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ****20.1 Возбудитель рожи свиней**

Рожа—септическая инфекционная болезнь, преимущественно молодняка свиней (от 2 мес до 1 г.) Возбудителем рожи является *Erysipelotrix rhusiopathiae* (*Bact. rhusiopathiae suis*). Бактерию открыли Пастре и Тюилье в 1882 г. Она включается в отдел *Firmicures* и род *Erysipelotrix*. Заболевание протекает остро, подостро и хронически. При остром течении болезни на слизистых оболочках, серозных покровах паренхиматозных органов наблюдается кровоизлияние; при подостром течении на коже появляются ярко-красные пятна (крапивница); при хроническом течении часто развивается эндокардит, полиартрит или некроз кожи. У людей, имевших контакт с инфицированными продуктами убоя, заболевание характеризуется появлением на пальцах и кистях рук красных пятен, сыпи (эризипелоид).

*Морфология.* *Erysipelotrix rhusiopathiae* представляет собой прямую или слегка изогнутую палочку размерами 0,2—0,3×1,4—2,0 мкм. В старых бульонных культурах и мазках-отпечатках из разражений эндокарда встречаются длинные переплетающиеся нити. Микроб неподвижен, спор и капсул не образует, по Граму красится положительно.

*Культуральные свойства.* Возбудитель рожи свиней является факультативным анаэробом, хорошо растет в аэробных условиях на простых питательных средах (рН 7,2—7,6) при 37°C. Он может также развиваться и при комнатной температуре. На МПБ через 24 ч образуется равномерное легкое помутнение без пристеночного кольца и пленки. При встряхивании наблюдается незначительная волнистость («муаровые волны»). Через 48—72 ч выпадающий на дно осадок при встряхивании поднимается в виде облачка. На МПА через 16—24 ч возбудитель рожи свиней растет в виде мельчайших прозрачных росинчатых колоний. В старых культурах колонии имеют сероватый оттенок. На МПЖ при посеве уколом через 6—8 дней от линии укола отходят густые серовато-белые горизонтальные отростки, по внешнему виду напоминающие ерш.

*Устойчивость.* Возбудитель рожи свиней довольно быстро погибает в жидкой среде при ее нагревании: при 75°C гибнет через несколько секунд, при кипячении — моментально. В высушенном и замороженном состоянии палочка возбудителя рожи может сохранять свою жизнеспособность несколько месяцев. В мясных продуктах возбудитель рожи выживает длительное время. Так, в соленом мясе — до 2 мес, копченой свинине — до 3 мес. При копчении мяса возбудитель может сохранять свою жизнеспособность в глубоких слоях. В кусках мяса толщиной 15 см микроб погибает при варке в течение 2,5 ч, в рассоле (18—22%-ного раствора поваренной соли)—через 48-72 ч. Дезинфицирующие вещества— 1%-ный раствор хлорной извести, 3%-ный раствор фенола, 2%-ный раствор едкого натра — вызывают гибель возбудителя через несколько минут.

*Патогенность.* В естественных условиях возбудитель рожи вызывает заболевание не только у свиней, но и у ягнят, индеек, кур, уток, голубей. У птиц рожа протекает в форме септицемии. Из лабораторных животных наиболее чувствительны к возбудителю рожи голуби, белые мыши.

*Диагностика.* Для бактериологического исследования в лабораторию направляют паренхиматозные органы, лимфоузлы. При крапивнице посылают кусочки пораженных участков кожи. Бактериологическое исследование включает микроскопию, выделение чистой культуры возбудителя и биопробу.

Для микроскопии готовят мазки-отпечатки из патологического материала, окрашивают по Граму. Обнаруживают длинные, переплетающиеся нити грамположительных палочек. При экспресс-диагностике мазки-отпечатки обрабатывают флюоресцирующими сыворотками и рассматривают под люминесцентным микроскопом.

Для получения чистой культуры высевы из патологического материала проводят на обычные и элективные питательные среды, выдерживают в термостате при 37°C в течение 24—48 ч. Полученную культуру микроскопируют, изучают культурально-биохимические свойства, а также ставят реакцию агглютинации (РА) на предметном стекле с типоспецифической противорожистой сывороткой.

Биопробу проводят на голубях и белых мышах. Заражают их суспензией из органов или выделенной культурой. Гибель мышей наступает через 2—4 сут, голубей— через 2—5 сут.

## 20.2 Возбудители листериоза

*Листериоз* - инфекционная болезнь, вызываемая *Listeria monocytogenes*, характеризующаяся различными вариантами течения, среди которых преобладают ангинозно-септическая и нервная формы. Возбудитель листериоза описан М. Хапфесом (1911). Возбудитель листериоза относится к отделу *Firmicutes*, роду *Listeria*. Род назван в честь шотландского хирурга Д. Листера.

*Морфология.* *L. monocytogenes* . короткие, слегка изогнутые палочки (длиной 0,5.0,5 мкм) или коккобактерии (см. рис. 10.1). В мазках нередко

располагаются параллельно или под углом друг к другу. Обладают жгутиками, капсулой. Не образуют спор. Грамположительны. *Культуральные свойства.* Возбудитель листериоза . аэроб, растет (но плохо) на обычных питательных средах при слабощелочной реакции среды и температуре 37 .С. Биохимическая активность невысокая.

*Антигенная структура.* Листерии имеют О- и Н-антигены, различия в антигенной структуре позволяют выделить 7 сероваров.

*Факторы патогенности.* Возбудитель листериоза образует эндотоксин. Обладает гемолитической, лецитиназной активностью, моноцитозстимулирующим действием (отсюда название *monocytogenes*).

*Устойчивость.* Листерии обладают значительной устойчивостью: хорошо переносят низкие температуры, высушивание, при кипячении погибают в течение 3.5 мин. В воде, зерне, соломе при низких температурах могут сохраняться в течение нескольких лет. В молоке и мясе при 4 .С не только не гибнут, но и размножаются.

*Эпидемиология.* Листерии обнаруживают во многих природных объектах, но больше всего их находят в силосе и других растительных кормах. Основным путем передачи листериоза является алиментарный . при употреблении мяса, молока, сыра, овощей. Возможны также водный, контактный пути передачи. При контакте с больными животными, воздушно-пылевой . при обработке шерсти животных, шкур, пуха. Обычно отмечаются спорадические случаи инфекции. Более восприимчивы к листериозу люди старше 55 лет, дети до 1 года и больные иммунодефицитами. Однако наиболее опасен листериоз для беременных женщин, у которых также снижен иммунный статус. Заболевание может передаваться плоду трансплацентарно, что приводит к гибели плода или рождению недоношенного больного ребенка, который обычно погибает.

*Патогенез.* Входные ворота инфекции -- чаще всего слизистая оболочка пищеварительного тракта, дыхательных путей, поврежденная кожа. Листерии попадают в кровь и проникают в печень, селезенку, лимфатические узлы и нервную систему. В этих органах образуются листериомы -- узелки, состоящие из измененных клеток органов и мононуклеарных фагоцитов, а также скоплений возбудителя. При гибели листерии освобождается эндотоксин, вызывающий интоксикацию. В результате повреждения фагоцитов усугубляется состояние иммунодефицита.

*Клиническая картина.* Инкубационный период продолжается 2. 4 нед. Заболевание может протекать по типу ангины, сепсиса, тифа, могут преобладать признаки поражения ЦНС (менингиты, энцефалиты, абсцесс мозга, психозы). Наиболее тяжело, по типу сепсиса, с высокой летальностью (более 50 %) протекает листериоз у новорожденных.

*Диагностика.* Материал для исследования - кровь, спинномозговая жидкость, смыв из зева, околоплодные воды. Применяют бактериологический, серологический (РСК, РНГА с парными сыворотками), аллергический методы.

### **20.3. Возбудитель псевдотуберкулёза.**

Псевдотуберкулёз, или родентиоз, - инфекционная болезнь, характеризующаяся циклическим течением, интоксикацией, узелковыми поражениями внутренних органов (лёгкие, печень, селезёнка, почки, лимфатические узлы) и общей аллергической реакцией.

Термин «псевдотуберкулёз» предложил в 1883 г. Эберт на основании внешнего сходства поражений в органах животных с теми, которые известны при туберкулёзе. Возбудитель псевдотуберкулёза – *Yersinia pseudotuberculosis*.

*Y.pseudotuberculosis* по морфологии практически неотличима от возбудителя чумы. Это полиморфная бактерия. Встречаются кокковидные формы длиной 0,8-2 мкм и шириной 0,4-0,8 мкм, а также палочки с закруглёнными концами длиной 1,5 -6,0 и шириной 0,4-0,8 мкм. Грамотрицательны. Подвижна, имеет жгутики (5-9), спор нет, иногда образует капсулу.

*Культуральные свойства.* Факультативный анаэроб, хорошо растёт на обычных питательных средах (МПА и МПБ) при рН 6,0-8,0 и температуре 28 -30 °С. При пониженной температуре (4-22 °С) бактерия приобретает жгутиковый аппарат и становится подвижной, чем отличается от возбудителя чумы. Может обитать и размножаться в холодных водоёмах.

*Патогенность.* Спонтанная заражённость иерсиниями отмечена у 60 млекопитающих и 27 видов птиц. В естественных условиях восприимчивы зайцы, дикие кролики, ондатры, серые крысы, домовые мыши, песчанки, выхухоль, куницы, хорьки, куры, индейки, фазаны, голуби, канарейки и др. Экспериментально удаётся заразить овец и свиней. Лошади, коровы, ослы, козы, собаки и кошки маловосприимчивы. Из лаб. животных чувствительны белые мыши, кролики, морские свинки. Болеет человек. Инкубационный период 8-10 дней. Иммуитет нестойкий, иммунный ответ возникает плохо.

### **Вопросы для самоконтроля:**

1. Опишите морфологию, этиологию и патогенез возбудителя рода свиней.
2. Опишите морфологию, этиологию и патогенез возбудителя листериоза.
3. Опишите морфологию, этиологию и патогенез возбудителя псевдотуберкулёза.

### **СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

#### *Основная*

1. **Асонов, Н.Р.** Микробиология / Н.Р. Асонов. – М.: Колос, 2011. – 352 с.
3. **Гусев, М.В.** Микробиология / М.В. Гусев, Л.А. Минаева. – М.: Академия, 2008. – 464 с.
4. **Емцев, В.Т., Мишустин, Е.Н.** Микробиология / В.Т. Емцев, Е.Н. Мишустин. – М.: Дрофа, 2005. – 446 с.

#### *Дополнительная*

1. **Шлегель, Г.** Общая микробиология / Г. Шлегель. – М.: Мир, 1987, – 568 с.
2. **Котова, И.Б., Нетрусов, А.И.** Общая микробиология / И.Б. Котова
3. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии / А.А. Воробьёв, [и др.]. – М.: Мастерство; Высшая школа, 2001. – 224 с.

## Лекция № 21

### ПОНЯТИЕ ОБ ИММУНИТЕТЕ

Еще в древние времена было замечено, что человек, который перенес инфекционное заболевание, становится к нему невосприимчивым и повторно не болеет. В средние века людей, переболевших чумой, холерой, привлекали к уходу за больными или к захоронению умерших. Впервые английский врач Э. Дженнер использовал искусственное заражение человека для предохранения его от заболевания оспой. Затем Л. Пастер предложил прививки против бешенства и сибирской язвы. Изучение явлений иммунитета позволило создать вакцины, получить лечебные сыворотки и гаммаглобулины. В процессе эволюции у человека сформировалась специальная система защиты организма от чужеродных веществ и микроорганизмов, вызывающих заболевания. Эта система называется иммунной системой. Она представлена лимфоидной тканью и выполняет функции специального надзора, т.е. распознает чужеродные вещества, генетически чуждые макроорганизму. Чужеродные агенты, попадающие в наш организм, называются «антигенами».

#### 21.1 Виды и формы иммунитета.

Существуют различные классификации видов и форм иммунитета. Наиболее простая классификация: 1 **Врождённый иммунитет** (видовой): естественные неспецифические механизмы защиты, врожденный иммунитет является наиболее прочной формой невосприимчивости, которая обуславливается врожденными, биологическими особенностями данного вида. Например, человек не болеет чумой рогатого скота или куриной холерой. Животные не болеют заболеваниями человека: дифтерией, сифилисом и др. Эти свойства невосприимчивости к тем или иным заболеваниям передаются потомству по наследству. Поэтому мы говорим о врожденном иммунитете.

2. **Приобретённый иммунитет.** Приобретённый иммунитет может быть *естественный или искусственный*. В свою очередь приобретённый естественный и искусственный иммунитет могут быть *активным и пассивным*. *Приобретённый естественный активный иммунитет* возникает после того, как человек перенес инфекционную болезнь, поэтому этот иммунитет также называют постинфекционным. Приобретенный иммунитет индивидуален и по наследству не передается. Если человек в детстве переболел эпидемическим паротитом (свинкой), то это не значит, что его дети не будут болеть этим заболеванием. Длительность приобретенного иммунитета различна и зависит от вида возбудителя. Например, после перенесения одних заболеваний в организме человека образуется длительный, пожизненный иммунитет (чума, эпидемический паротит, коклюш, туляремия и др.), а после перенесения других заболеваний остается непродолжительный, кратковременный иммунитет. Такими инфекциями человек может болеть несколько раз (грипп А, гонорея, ангина и др.). Невосприимчивость к инфекции возникает не только при выраженной форме заболевания, но и при бессимптомных формах течения болезни. *Приобретённый естественный пассивный иммунитет* новорожденных обусловлен передачей особых защитных веществ — антител — из организма матери плоду через плаценту или ребенку через грудное молоко. Продолжительность такого иммунитета невелика, всего несколько месяцев, но его роль для здоровья ребенка очень важна. Уже точно доказано, что дети, находящиеся на грудном вскармливании, болеют гораздо реже, чем те, которые вскармливаются искусственно. *Приобретённый искусственный иммунитет* — его создают в организме человека искусственным путем, чтобы предупредить возникновение инфекционной болезни, а также используют для лечения инфекционных болезней. *Приобретённый искусственный активный иммунитет* создают у человека путем введения вакцин или анатоксинов (обезвреженного с помощью формалина токсина). Активный иммунитет может быть напряженным и длительным. Длительность зависит от качества вакцины. *Приобретённый искусственный пассивный иммунитет* создается путем введения в

организм человека иммунных сывороток, в которых содержатся иммунные антитела. Пассивный иммунитет сохраняется недолго, около месяца, до тех пор, пока сохраняются антитела в организме. Затем антитела разрушаются и выводятся из организма. Сыворотки обычно вводят в тех случаях, когда предполагается, что заражение уже произошло, и когда нужно обеспечить быстрое наступление иммунитета. Например, маленьким детям, бывшим в контакте с больным корью, с профилактической целью вводят противокоревый гамма-глобулин.

### **19.2. Основные механизмы защиты.**

1. Неспецифическая резистентность – это механические, физико-химические, клеточные, гуморальные и физиологические защитные реакции, направленные на сохранение постоянства внутренней среды и восстановление нарушенных функций макроорганизма. Это барьерная функция кожи, слизистых оболочек, лимфатических узлов, бактерицидные вещества жидкостей (слюна, сыворотка крови), выделительная функция, температурная реакция и др.

*Кожа.* В неповреждённом состоянии кожа является надёжным механическим барьером. Кислая среда пота связана с наличием в ней уксусной, молочной и жирных кислот, оказывающих бактерицидное действие на ряд микробов (гемолитический стрептококк, сальмонеллы брюшного тифа и паратифов, *E.coli*). *Слизистые оболочки* глаз, рта, носа желудка и др. органов оказывают противомикробное действие из-за содержания в них лизоцима, иммуноглобулин А. В тканях и органах гиалуроновая кислота задерживает проникновение микробов.

Если микроб преодолевает барьер кожи и слизистых защитную функцию начинают выполнять лимфатические узлы. Там начинается *воспалительная реакция*, направленная на ограниченное действие повреждающих факторов. Воспалительная реакция характеризуется освобождением из тканей ряда веществ (простогландины, вазоактивные амины, лейкотоксин, лейкопенический фактор, гистамин, серотонин), под влиянием которых начинается активация лейкоцитов и скопление их в зоне воспаления. Воспаление обуславливает повышение температуры тела, возникновение ацидоза и гипоксии, что губительно действует на микроорганизмы. В дальнейшем в освобождении организма от микробов и других чужеродных факторов активное участие принимает фагоцитоз.

*Фагоцитоз* – это поглощение и переваривание клетками организма попавших в него микробов и др. инородных частиц. Все клетки, обладающие фагоцитарной активностью выделяют в систему мононуклеарных фагоцитов, которая состоит из клеток-предшественников, промоноцитов костного мозга, моноцитов крови и происходящих из них макрофагов. Стадии фагоцитоза: 1) хемотаксис и адгезия (прилипание) частиц к поверхности фагоцита; 2) поглощение частиц и образование фагосомы; 3) слияние фагосомы и лизосомами; 4) ферментативное переваривание захваченных частиц и удаление оставшихся микробных элементов.

Фагоцитоз, при котором происходит гибель фагоцитированного микроба, называют завершённым. Но некоторые микробы могут не гибнуть и размножаться внутри фагоцита (возбудители туберкулёза, сибирской язвы). Такой фагоцитоз называют незавершённым.

*Выделительная функция* почек, дыхательного тракта, желудка, кишечника, молочных, слюнных и потовых желез – проявление неспецифич. резистентности и способствует освобождению организма от вредных веществ

*Гуморальные факторы* – нормальные антитела, лизоцим, секреторный Ig А, пропердин, комплемент, β-лизины, лактоферрин, интерферон, ингибиторы вирусов в сыворотке крови.

2. Врождённый (видовой или наследственный) иммунитет – это резистентность организма к определённым патогенным агентами, которая передаётся по наследству и присуща определённому виду. Например, невосприимчивость людей к чуме рогатого скота, собак, куриной холере. Животные не болеют многими инфекциями человека: брюшным тифом, скарлатиной, сифилисом, корью, вирусными гепатитами. Видовой

иммунитет - следствие длительной эволюции взаимоотношений макроорганизма и патогенных микроорганизмов. Относительный врождённый иммунитет- это иммунитет при котором восприимчивость некоторых животных к возбудителям инфекционных болезней можно повысить, изменяя температуру тела, действуя гормонами, иммунодепрессантами, рентгеновским облучением. Например, если у кур повысить, а у лягушек понизить температуру тела, то они становятся чувствительными к сиб. язве.

В основе механизмов видового иммунитета лежит отсутствие в клетках организма рецепторов и субстратов, необходимых для адсорбции и размножения возбудителя, наличие веществ, блокирующих размножение патогенных агентов, способность макроорганизма синтезировать различные ингибиторы в ответ на внедрение болезнетворных микробов.

3. Приобретённый иммунитет – специфическая защита против генетически чужеродных субстанция (антигенов), осуществляемую иммунной системой организма в виде выработки антител или накопления сенсibilизированный лимфоцитов.

Иммунная система состоит из центральных и периферических органов. К центральным относится тимус, костный мозг, су́ма Фабрициуса (у птиц), её аналог у человека –пейеровы бляшки; к периферическим – селезёнка, лимфатические узлы, кровь и др. Главным компонентом иммунной системы является лимфоидная стволовая клетка, которая генерирует образование двух типов клеток-предшественников Т-клеток и предшественников В-клеток. Предшественники Т-клеток, попадая в тимус, дифференцируются в Т-лимфоциты, предшественники В-клеток дифференцируются в пейеровых бляшка. Т- и В-лимфоциты заселяют периферические органы, Т-лимфоциты – лимфатические узлы, селезёнку, интрамедуллярные пространства лимфоидных органов кишечника, В-лимфоциты – грудной проток, лимфатические узлы, селезёнку, костный мозг. Первыми из этих клеток вступают в контакт с антигеном макрофаги, перерабатывают его в форму, доступную для Т- и В-лимфоцитов, с которыми макрофаг вступает в контакт и передаёт им информацию. Система В-лимфоцитов обеспечивает гуморальный иммунитет против большинства бактериальных инфекций: антитоксический иммунитет, ГНТ, атопии и ряда аутоиммунных состояний. Системам Т-лимфоцитов определяет клеточный иммунитет при вирусных инфекциях, туберкулёзе, бруцеллёзе, ГЗТ, трансплантационный и противоопухолевый иммунитет, иммунологическую толерантность. Т-лимфоциты делятся на Т-хелперов (помощников В-лимфоцит., повышающих антителообразование), Т-киллеров (атакующих трансплантат), Т-супрессоров (ответственны за формирование иммунологической толерантности).

#### **Вопросы самоконтроля**

1. Какие виды и формы иммунитета вы знаете?
2. Опишите механизмы неспецифической резистентности.
3. Врождённый иммунитет.
4. Приобретённый иммунитет.

#### **СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. **Асонов, Н.Р.** Микробиология / Н.Р. Асонов. – М.: Колос, 2011. – 352 с.
2. **Гусев, М.В.** Микробиология / М.В. Гусев, Л.А. Минаева. – М.: Академия, 2008. – 464 с.
3. **Емцев, В.Т., Мишустин, Е.Н.** Микробиология / В.Т. Емцев, Е.Н. Мишустин. – М.: Дрофа, 2005. – 446 с.

#### *Дополнительная*

1. **Шлегель, Г.** Общая микробиология / Г. Шлегель.– М.: Мир, 1987, – 568 с.
2. **Котова, И.Б., Нетрусов, А.И.** Общая микробиология / И.Б. Котова
3. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии / А.А. Воробьёв, [и др.]. – М.: Мастерство; Высшая школа, 2001. – 224 с.

## Лекция № 22.

### САНИТАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

**Санитарная микробиология** занимается изучением микрофлоры и микробиологических процессов, происходящих в объектах внешней среды, выявляет бактерионосителей, осуществляет контроль за санитарно-бактериологическим состоянием воды, воздуха и пищевых продуктов, разрабатывает способы их оздоровления.

#### 22.1. Санитарно показательные микроорганизмы (СПМ).

Микрофлора пищевых продуктов представляет собой сложную динамическую систему, связанную с внешней средой. Для оценки качества пищевых продуктов, а также условий их производства и хранения пользуются количественными и качественными микробиологическими показателями.

Количественные показатели указывают на общее число микроорганизмов в 1 г продукта. Основным количественным тестом является КМАФАнМ продукта – количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов в 1 г. КМАФАнМ не определяется у продуктов, изготовленных на заквасках. Для многих продуктов КМАФАнМ нормируется.

Качественные показатели указывают на отсутствие микробов конкретных видов в определённой массе продукта. Обычно проверяют наличие сальмонелл, золотистого стафилококка, протей. Для ряда продуктов установлены дополнительные требования – выявление *Cl.botulinum*, *Cl.perfringens*. Непосредственное выявление патогенных микробов в пищевых продуктах связано с большими трудностями из-за небольшой концентрации. Поэтому кроме прямых методов обнаружения патогенных микроорганизмов применяют косвенные, определяя санитарно-показательные микроорганизмы. Наличие санитарно-показательных микроорганизмов свидетельствует о возможном присутствии в объектах окружающей среды патогенных микробов и о загрязнении объекта выделениями человека и животных.

*Санитарно-показательные микроорганизмы* – это микроорганизмы, которые постоянно содержатся в выделениях человека и некоторых теплокровных животных; не находятся в других природных резервуарах или не имеют других естественных мест обитания; после выделения в окружающую среду сохраняются жизнеспособными в течение сроков, близких к срокам выживания некоторых патогенных бактерий, выделяющихся из организма теми же путями; не могут интенсивно размножиться в окружающей среде, т. е. их количество остается постоянным определенный период времени после попадания в окружающую среду, легко обнаруживаются современными микробиологическими методами и поддаются количественному определению; являются достаточно типичными для дифференциации от других видов и достаточно стабильными по своим признакам.

Возбудители кишечных инфекций имеют общий путь выделения (с фекалиями) с санитарно-показательными микроорганизмами. В настоящее время в качестве показателя фекального загрязнения пищевых продуктов используют *S.faecalis*, а также бактерии группы кишечных палочек (БГКП). В группу кроме *Escherichia coli*, входят бактерии других родов семейства *Enterobacteriaceae*: *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, которые также встречаются в кишечнике человека и теплокровных животных. Для некоторых пищевых продуктов содержание БГКП нормировано ГОСТом. На отдельные виды продуктов разработаны рекомендации (в виде указаний).

Возбудители воздушно-капельных инфекций имеют общий путь выделения с бактериями, постоянно обитающих на слизистой верхних дыхательных путей и выделяющимися в окружающую среду при кашле, чихании, разговоре. В связи с этим санитарно-показательными для воздуха закрытых помещений предложены гемолитические стрептококки и золотистые стафилококки.

В почве санитарно-показательными микроорганизмами являются – БГКП, *Cl.perfringens*, в воде – БГКП, *St.faecalis*, в продуктах питания – БГКП, *Streptococcus*

*faecalis*, *Staphylococcus aureus*, протей. Стойкость пищевых продуктов при хранении оценивают также по количеству мицелиарных грибов, дрожжей и специфического для каждого вида в определённой массе продукта.

Определение загрязнённости почвы, воды, воздух, продуктов питания и других объектов выделениями человека и животных проводят путём количественного учёта санитарно-показательных микроорганизмов.

Допустимое содержание БГКП выражается в виде «титра БГКП» (коли-титр) – минимально количества (масса, объём) продукта, в котором могут быть обнаружены эти бактерии, или определённой массой (объёмом) продукта, в которой БГКП должны отсутствовать.

Таким образом, гигиенические нормативы по микробиологическим показателям безопасности и пищевой пищевых продуктов включают следующие группы микроорганизмов:

- санитарно-показательные, к которым относятся: количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ), бактерии группы кишечных палочек - БГКП (колиформы), бактерии семейства *Enterobacteriaceae*, энтерококки;

- условно-патогенные микроорганизмы, к которым относятся: *E. coli*, *S. aureus*, бактерии рода *Proteus*, *B. cereus* и сульфитредуцирующие клостридии, *Vibrio parahaemolyticus*;

- патогенные микроорганизмы, в т.ч. сальмонеллы и *Listeria monocytogenes*, бактерии рода *Yersinia*;

- микроорганизмы порчи - дрожжи и плесневые грибы, молочнокислые микроорганизмы;

- микроорганизмы заквасочной микрофлоры и пробиотические микроорганизмы (молочнокислые микроорганизмы, пропионовокислые микроорганизмы, дрожжи, бифидобактерии, ацидофильные бактерии и др.) - в продуктах с нормируемым уровнем биотехнологической микрофлоры и в пробиотических продуктах.

Прямое выявление в пищевых продуктах патогенных и условно-патогенных микробов и их ядов проводится в соответствии с существующими нормативными документами. Согласно требованиям ГОСТов патогенные микроорганизмы и их токсины должны отсутствовать в определённом объёме (массе (25, 50 и т.д.)) материала, подвергнутого исследованиям.

## **22.2. Эпидемическая безопасность пищевых продуктов. Правовые акты.**

В Российской Федерации принят ряд законов, направленных на обеспечение эпидемиологической безопасности пищевых продуктов.

Закон РФ «О защите прав потребителей» от 07.02.92 г. № 2300-1 – регламентирует безвредность готовой продукции, применяемого сырья, материалов и доброкачественных отходов для населения и окружающей среды.

Закон «Основные законодательства РФ об охране здоровья граждан» от 22 июля 1993 г.

Раздел I. Статья 1. Охрана здоровья граждан.

Раздел II. Статья 5. Компетенция РФ.

Раздел III. Статья 11. Санитарно-эпидемиологическое благополучие населения»

Закон РФ «О сертификации продукции и услуг» от 10.06.93 г. № 5151-1 (ред. от 27.12.95 г.) и Федеральный Закон «О внесении изменений и дополнений в Закон РФ «О сертификации продукции и услуг» от 31.07.98 г. №154. Эти федеральные законы устанавливают правовые основы сертификации продукции, включая пищевую, и услуг, в том числе общественного питания.

Федеральный закон «О внесении изменений и дополнений в закон РФ «О защите прав потребителей» и Кодекс РСФСР об административных нарушениях от 09.01.96 г. Статья 5. П.5.4. На продукты питания изготовитель обязан установить срок годности –

период, по истечении которого товар считается непригодным для использования по назначению.

Федеральный закон РФ «О продовольственной безопасности РФ», принятый в 1998 г., устанавливает обязанности исполнительной власти по обеспечению продовольственной безопасности граждан страны в целом; фиксирует основные механизмы обеспечения продовольственной безопасности страны.

Закон Российской Федерации «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения, включая санитарные вопросы безопасности пищевых продуктов и продовольственного сырья.

Федеральный закон «О качестве и безопасности пищевых продуктов» от 02.01.2000 г. № 29-ФЗ обеспечивает создание правовой базы, регулирующей отношения в цепи производство-потребление пищевых продуктов. Государственное нормирование, а также надзор и контроль за качеством и безопасностью пищевых продуктов осуществляется путём установления стандартов, санитарных правил, норм и гигиенических нормативов, обязательных для выполнения юридическими и физическими лицами.

Нормативный документ, устанавливающий показатели качества и безопасности, - «Гигиенические требования к качеству и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов» - СанПиН 2.3.2.560-96

Новый санитарные правила: нормативный документ «Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов» - СанПиН 2.3.3. 1078-01 и СанПиН 2.3.2.1153-02 - дополнения № 1 к СанПиН 2.3.2.1078-01"Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов"

Эпидемиологическая безопасность оценивается согласно санитарным правилам, нормам, гигиеническим нормативам, ветеринарным правилам; включает в себя не только разработку нормативной документации, но и методы контроля по микробиологическим показателям.

### **Вопросы для самоконтроля**

1. Санитарно-показательные микроорганизмы.
2. Гигиенические нормативы по микробиологическим показателям безопасности и пищевой пищевой.
3. Эпидемическая безопасность пищевых продуктов. Правовые акты.
4. Методы контроля микробиологических показателей:

### **СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. **Асонов, Н.Р.** Микробиология / Н.Р. Асонов. – М.: Колос, 2011. – 352 с.
3. **Гусев, М.В.** Микробиология / М.В. Гусев, Л.А. Минаева. – М.: Академия, 2008. – 464 с.
4. **Емцев, В.Т.** Микробиология / В.Т. Емцев, Е.Н. Мишустин. – М.: Дрофа, 2005. – 446 с.
5. **Неверова, О.А.** Пищевая биотехнология продуктов из сырья растительного происхождения. / О.А. Неверова, Г.А. Гореликова, В.М. Поздняковский. – Новосибирск, Сибирское университетское издательство, 2007. – 415 с.

#### *Дополнительная*

1. **Котова, И.Б., Нетрусов, А.И.** Общая микробиология / И.Б. Котова
2. **Найдёнова, Э.Г.** Пищевая микробиология. Методические указания к выполнению СРС для направления 260100 «Технология продуктов питания» магистерской программы./ Э.Г. Найдёнова. – Улан-Удэ: изд-во ВСГТУ, 2006. – 34 с.
3. **Шлегель, Г.** Общая микробиология / Г. Шлегель. – М.: Мир, 1987, – 568 с.
4. **Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии / А.А. Воробьёв, [и др.].** – М.: Мастерство; Высшая школа, 2001. – 224 с.

## Лекция 23

### ЗАБОЛЕВАНИЯ, ПЕРЕДАЮЩИЕСЯ ЧЕРЕЗ ПИЩЕВЫЕ ПРОДУКТЫ. ПИЩЕВЫЕ ИНФЕКЦИИ

#### 23.1 Характеристика заболеваний, передающихся через пищевые продукты.

Заболевания, причиной которых служит пища, инфицированная патогенными или условно патогенными микроорганизмами, называют алиментарными (пищевыми). Пищевые заболевания в зависимости от их специфических особенностей подразделяют на 2 группы: пищевые инфекции и пищевые отравления. Сравнительная характеристика пищевых заболеваний приведена в таблице:

Пищевые инфекции	Пищевые отравления
<ol style="list-style-type: none"><li>1. Заразные заболевания</li><li>2. Распространяются не только через пищу, но также через воду, воздух, контактно-бытовым путём</li><li>3. Большинство возбудителей в пищевых продуктах не размножаются, но длительное время сохраняет жизнеспособность и вирулентность</li><li>4. Заражающая доза микробов может быть невелика</li><li>5. Инкубационный период довольно продолжительный, характерный для каждого заболевания: от нескольких дней до нескольких недель и более</li></ol>	<ol style="list-style-type: none"><li>1. Незаразные заболевания</li><li>2. Возникают только при употреблении инфицированной пищи</li><li>3. Возбудители интенсивно размножаются в пищевых продуктах и образуют токсины.</li><li>4. Заболевание возникает при значительной концентрации микробов в продукте.</li><li>5. Инкубационный период короткий: обычно несколько часов.</li></ol>

#### 23.2. Пищевые инфекции.

Как уже было сказано в пищевых продуктах патогенные микробы не размножаются, но сохраняют свою жизнеспособность и вирулентность. Источником заражения продуктов питания являются люди и животные. Пищевые инфекции заразны и могут принимать характер эпидемии. К ним относят

**23.2.1. Кишечные инфекции.** Источник – человек; способ заражения - через рот, пути распространения – инфицированные вожжа, пища и посуда.

*Холера* – особо опасная инфекция. Возбудители холеры являются биовар классического холерного вибриона, описанного впервые в 1854 г. Ф.Пацини и подробно исследованного Р.Кохом в 1883 г., и биовар вибриона Эль-Тор, выделенного из трупа паломника на Синайском полуострове Ф. Готшилхом в 1906 г. Возбудитель холеры *Vibrio cholerae* относится к семейству *Vibrionaceae*, виду *Vibrio*. Вид *Vibrio cholerae* подразделяется на 4 биовара: *cholerae*, *eltor*, *proteus* и *albensis*. *Vibrio cholerae* биовар *cholera* и биовар *eltor* являются возбудителями холеры у человека; *Vibrio cholerae* биовар *proteus* вызывает у птиц понос, у людей – гастроэнтерит; *Vibrio cholera* биовар *albensis* обнаружен в свежей воде, в испражнениях и желчи человека.

Холерные вибрионы имеют форму изогнутой палочки длиной 1,5 – 3,0 мкм, и толщиной 0,3 мкм; очень подвижные, обычно монотрихи, не образуют спор и капсул, Г-, факультативные анаэробы, оптимуму роста – 18-37 °С, крайние границы 14-42 °С, pH

среды 7,2-8,6. На плотных средах образуют прозрачные, с голубоватым оттенком колонии. На щелочном бульоне и пептонной воде через 6 ч роста появляется нежная плёнка, состоящая из холерных вибрионов. Под влиянием физических, химических и биологических факторов холерные вибрионы подвержены изменчивости. На искусственных средах и старых культурах они могут принимать форму зёрен, шаров, колбовидных образований, палочек, нитей, образовывать L-формы; при пересеве на свежие среды вибрионы возвращаются к исходным формам.

*Брюшной тиф и паратифы.* Возбудители относятся к роду *Salmonella*. Возбудитель брюшного тифа (*S.typhi*) открыт в 1880 г. К.Эбертом. Сальмонеллы – Г-палочки, подвижные, сальмонеллы паратифов по форме, величине и тинкториальным свойствам не отличаются от брюшнотифозных. Во льду брюшнотифозные и паратифозные А и В сальмонеллы сохраняются в течение нескольких месяцев, в почве – до 2 мес, на пищевых продуктах сохраняются длительное время, например на сливочном масле, сыре, мясе, хлебе – 1- 3 мес, в воде – несколько недель, на овощах, фруктах – 5 -10 суток, в высушенных фекальных массах могут сохраняться длительно. Сальмонеллы брюшного и паратифов чувствительны к нагреванию: при 56 °С погибают в течение 45 – 60 мин, при кипячении – за несколько секунд, от воздействия дезинфицирующих растворов фенола и хлорамина – через несколько мин. Животные в естественных условиях брюшным тифом не болеют. Первичным местом локализации возбудителя у человека является пищеварительный тракт. Инкубационный период длится 10-14 дней.

*Бактериальная дизентерия.* Возбудитель дизентерии впервые описан в 1888 г. А. Шантемесом и Ф. Видалем, в 1891 г. – А.В. Григорьевым и в 1898 г. подробно описан К.Шига., в 1900 г. С. Флекснером и в 1915 г. К. Зонне. Возбудители относятся к роду *Shigella*, виды *Sh.dysenteriae*, *Sh.flexneri*, *Sh.sonnei*. Особенность шигелл – неподвижность. Это факультативные анаэробы, хорошо растут на обычных средах при рН 6,7 – 7,2, оптимальная температура роста 37 °С, при 45 °С не растут. Дизентерийные микробы могут в течение 5-14 суток сохраняться во внешней среде: на предметах, посуде, в пресной и морской воде, на поверхности денежных знаков, на овощах и фруктах. Шигеллы Зонне способны размножаться при повышенной температуре в пищевых продуктах, особенно в молочных (сметана, творог).

Прямой солнечный свет, 1% раствор формалина убивают их через 30 минут, температура 60 °С – через 10 -20 мин. К шигеллам в условиях питомника восприимчивы обезьяны. При заражении кроликов у них развивается интоксикация, приводящая к смерти. Заболевание у людей происходит через рот при употреблении инфицированных пищевых продуктов, особенно молока, воды, через руки, домашних мух. Шигеллы способны проникать в клетки слизистой оболочки толстого кишечника и размножаться в них, вызывая язвенное воспаления и, всасываясь через слизистую токсины вызывают интоксикацию организма. Инкубационный период – 2 - 7 дней.

**23.2.2. Вирусный гепатит** – Инфекционный гепатит известен давно, описан ещё Гиппократом как заразная форма желтухи. В 1883 г С.П. Боткин провёл глубокое исследование этой болезни. Предположение о вирусной природе гепатита высказано в 1937 г Г. Финдли и Ф. Мак-Коллумом при анализе вспышки желтухи после иммунизации солдат против жёлтой лихорадки (из 2,5 млн привитых заболело более 50 тыс. человек), а затем подтверждено исследованиями на добровольцах в 1943 – 1945 гг. В течение последующих 30 лет возбудитель вирусного гепатита оставался нерасшифрованным. В настоящее время термин «вирусный гепатит» объединяет 5 самостоятельных заболеваний – геп. А (инфекционный гепатит, болезнь Боткина) и геп. В (сывороточный гепатит), вирус геп. С («ласковый убийца» - способен маскировать истинную причину под видом множества других заболеваний), вирус геп. D (заражение встречается исключительно совместно с вирусом геп. В), вирус геп. Е (течение сходно с геп. А). Возбудитель инфекционного гепатита А мелкий, РНК-содержащий вирус. Он может размножаться в организме обезьян и длительно сохраняться в клетках печени. Источник заражения –

человек, заражаются через пищевые продукты и воду. Переносчиками могут быть мухи. Инкубационный период – 3-6 недель. Вирус поражает печень, циркулирует в крови. Выделяется с испражнениями.

### **23.2.3. Пищевые инфекции, передающиеся человеку от животных (зоонозы).**

*Бруцеллёз* – поражает крупный и мелкий рогатый скот, свиней. Бруцеллы – мелкие кокковидные бактерии, неподвижные, Г-, спор нет, аэробы. Бруцеллы характеризуются большой устойчивостью: в масле, брынзе, замороженном мясе, сыре сохраняются несколько месяцев. Люди заражаются употребляя молоко и молочные продукты, а также при контакте с животными и при разделке туш. Инкубационный период – 1 -3 недели и более. Заболевание протекает тяжело, с поражением опорно-двигательного аппарата, печени, селезёнки, нервной и половой систем.

*Туберкулёз* – возбудитель – микобактерии – это прямые, изогнутые, ветвистые палочки, неподвижны, спор нет, аэробы, устойчивы к кислотам, щелочам и спирту. В воде, замороженном мясе сохраняются до года, в сыре - до 2 мес., в масле – до 3 мес. Наиболее опасны для человека человеческий, бычий и птичий туберкулёз. Инкубационный период от нескольких недель до нескольких лет, заболевание продолжительное.

*Сибирская язва* – особо опасная инфекция. Возбудитель – *Bacillus anthracis* – крупная неподвижная споровая палочка, клетки располагаются цепочкой, аэроб. Люди заражаются при контакте с больным животным, через инфицированное кожевенное и меховое сырьё. Сибирская форма протекает в 3 формах: кишечной, лёгочной и кожной.

*Ящура* – острозаразная болезнь крупно рогатого скота, овец, коз, свиней. Возбудитель – мелкий, РНК-содержащий вирус. Сохраняется в масле до 25 дней, в мороженном мясе – до 145 дней. Инкубационный период – от 2 до 18 дней. Вирус проникает в кровь, заболевание сопровождается появлением на слизистой оболочке ротовой полости пузырьков, которые затем лопаются и превращаются в болезненные язвы.

### **Вопросы для самоконтроля**

1. Характеристика заболеваний, передающихся через пищевые продукты
2. Характеристика кишечных инфекций.
3. Характеристика пищевых инфекций, передающихся человеку от животных.
4. Характеристика вирусного гепатита.

### **СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. **Асонов, Н.Р.** Микробиология / Н.Р. Асонов. – М.: Колос, 2011. – 352 с.
3. **Гусев, М.В.** Микробиология / М.В. Гусев, Л.А. Минаева. – М.: Академия, 2008. – 464 с.
4. **Емцев, В.Т.** Микробиология / В.Т. Емцев, Е.Н. Мишустин. – М.: Дрофа, 2005. – 446 с.
5. **Неверова, О.А.** Пищевая биотехнология продуктов из сырья растительного происхождения. / О.А. Неверова, Г.А. Гореликова, В.М. Поздняковский. – Новосибирск, Сибирское университетское издательство, 2007. – 415 с.

#### *Дополнительная*

1. **Котова, И.Б., Нетрусов, А.И.** Общая микробиология / И.Б. Котова
2. **Найдёнова, Э.Г.** Пищевая микробиология. Методические указания к выполнению СРС для направления 260100 «Технология продуктов питания» магистерской программы./ Э.Г. Найдёнова. – Улан-Удэ: изд-во ВСГТУ, 2006. – 34 с.
- Шлегель, Г.** Общая микробиология / Г. Шлегель. – М.: Мир, 1987, – 568 с.
3. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии / А.А. Воробьёв, [и др.]. – М.: Мастерство; Высшая школа, 2001. – 224 с.

## ЗАБОЛЕВАНИЯ, ПЕРЕДАЮЩИЕСЯ ЧЕРЕЗ ПИЩЕВЫЕ ПРОДУКТЫ. ПИЩЕВЫЕ ОТРАВЛЕНИЯ. ТОКСИКОИНФЕКЦИИ.

### Пищевые отравления.

По природе пищевые отравления могут быть микробной и немикробной природы. Микробные пищевые отравления возникают при размножении микроорганизмов и накоплении токсинов в пищевых продуктах.

Как уже было показано в таблице, пищевые отравления незаразны, характеризуются острым течением и появляются вскоре после употребления зараженной пищи, внешне вполне доброкачественной.

Пищевые отравления микробного происхождения подразделяют на токсикозы (интоксикации) и токсикоинфекции.

Пищевые токсикоинфекции – возникают в результате употребления пищевых продуктов, содержащих большое количество живых микробов. Болезнь возникает внезапно, сопровождается рвотой и острой диареей. Позднее появляются признаки поражения центральной нервной системы – головные боли, головокружение, быстрая утомляемость, и т.д. Инкубационный период продолжается несколько часов, редко более суток.

Пищевые токсикоинфекции вызывают бактерии родов *Salmonella*, *Escherichia*, *Proteus*, *Clostridium*, *Bacillus*.

#### 24.1. Сальмонеллёзы.

Они занимают ведущее место среди пищевых токсикоинфекций. Первое место среди сальмонелл занимает *S.typhimurium* (палочка мышинного тифа). Бактерии рода *Salmonella* – это мелкие грамтрицательные палочки. Клетки имеют длину в среднем от 1 до 4 мкм, ширину – 0,3-0,8 мкм. В мазках располагаются одиночно. Большинство видов подвижны, имеют перитрихальные жгутики, капсул и спор не образуют. Сальмонеллы хорошо растут на обычных питательных средах (МПА, МПБ), средах Эндо (колонии розового цвета), Лёвина (бесцветные колонии с голубоватым оттенком), висмут-сульфитном агаре (чёрного цвета колонии с металличес. блеском). Они аэробы или факультативные анаэробы. Оптимальные рост наблюдается при температуре 37 °С, рН – 7,0- 7,2.

Сальмонеллы устойчивы к воздействию факторов внешней среды. При воздействии прямых солнечных лучей погибают через 5-9 ч. При температуре 60°С в течен. 1 ч, при 100°С – моментально. Дезинфицирующие средства (2 % р-р фенола и формальдегида) убивают сальм. в теч.15-20мин.

Основными источниками сальмонеллёзной инфекции являются сельскохозяйственные животные, водоплавающая домашняя птица, голуби, грызуны. Заражение пищевых продуктов сальмонеллами может быть различным. Если молоко инфицируется непосредственно от больных животных, то такое заражении называют первичным. Вторичное инфицирование продуктов наступает при неправильной обработке, хранении, транспортировании. Заражение мяса сальмонеллами может происходить при жизни животного (первичное) и после его убоя при разделке туш, транспортировки и хранении (втор.).

Сальмонеллёзная токсикоинфекция у человека проявляется через несколько часов после употребления заражённой пищи. Сальмонеллы вначале размножаются в тонком кишечнике, затем проникают в лимфатическую систему, кровь и вызывают интоксикацию организма.

У животных сальмонеллёзы проявляются в виде первичных сальмонеллёзов (характеризуются свойственными определённому виду животных симптомами

сальмонеллёза), вторичных (наслаиваются на основную болезнь, например чума свиней, осложняя её) и бактерионосительства (клинически здоровые животные, выделяющие сальмонелл с фекалиями и мочой) – представляют опасность как источник токсикоинфекции, если употреблять в пищу продуктов от таких животных.

#### **24.2. Эшерихии.**

Бактерии рода *Escherichia* – палочки с закруглёнными концами, мелкие длиной 1-3 мкм располагаются одиночно, реже попарно. По Грамму красятся отрицательно. Спор и капсул нет. Подвижные. Факультативный анаэроб, оптимальная температура роста 37 °С, рН = 7,0-7,4. Хорошо растёт на обычных питательных средах. В МПБ – интенсивное помутнение среды, незначительный хлопьевидный осадок. На МПА – круглые, с ровными краями гладкой поверхностью колонии, серо-белого цвета.

На дифференциальных средах: Эндо – тёмно-вишнёвого цвета с металл. блеском, на среде Левина колонии тёмно-фиолетовые/чёрные.

Патогенность обусловлена наличием термостабильного эндотоксина, а некоторые штаммы образуют и экзотоксины (энтеротоксигенные формы). Известны термостабильные и термолабильные энтеротоксины и 4 типа гемолизина. Эндотоксин термостабилен и относится к энтеротропным ядам – вызывает воспалительные процессы в кишечн., некроз слизистой, диарею.

Эшерихии устойчивы к факторам внешней среды и сохраняются в течение нескольких недель и месяцев. Они более устойчивы к воздействию физических и химических факторов внешней среды, чем сальмонеллы. В почве сохраняют жизнеспособность 8-11 мес, в навозе 11 мес, в воде – 300 дней. Неустойчивы к воздействию высокой температуры: при 60 °С погибают в течении 10 мин., при 100 °С моментально. На них губительно действуют дезинфицирующие вещества. *E.coli* используют как тест-объект при оценке методов дезинфекции и дезинфицирующих веществ, а также при титровании некоторых антибиотиков и в качестве санитарно-показательного микр-ма.

#### **24.3 Протей.**

Протей (*Proteus*) выделен Г.Хаузером в 1885 г. Обнаружение протей, как и кишечной палочки, в значительных количествах в пищевых продуктах сигнализирует о санитарном неблагополучии на изготовляющем их предприятии.

Протей – мелкие, грамотрицательные палочки размером 1-3 мкм в длину и 0,4-0,6 мкм в ширину, располагается парно или цепочками, не образующие спор и капсул. В зависимости от условий жизни эти бактерии способны менять свои формы и размеры. Характерной особенностью протей является его энергичная подвижность. Это свойство лежит в основе метода выявления протей на пищевых продуктах и отделения его от сопутствующих бактерий. Колонии протей распространяются по поверхности агара тонким прозрачным налётом.

Протей факультативный анаэроб, он хорошо развивается как при температуре 25 °С, так и при 37 °С, прекращая размножаться лишь при температуре около 5 °С. Он может сохраниться и в замороженных продуктах. Протей обитает в кишечнике человека, а некоторые виды обнаруживаются в воде, почве, пищевых продуктах.

Инкубационный период 4-20 ч.

#### **24.4. Бацилла цереус.**

*Bacillus cereus* – крупные, спорообразующие палочки, располагающиеся цепочками, капсул не образуют, аэробы. Оптимальная температура их развития 30-32 °С, минимальная – 5-10 °С. Эти бактерии могут расти при 10-15 % концентрации NaCl и концентрации сахара 60%. В продуктах с рН ниже 4,0 они не развиваются. Споры обладают высокой термоустойчивостью и могут сохраняться в продукте не только при обычной тепловой кулинарной обработке, но и при стерилизации консервов. Причиной отравления могут служить продукты животного и растительного происхождения, в которых не наблюдаются органолептические изменения даже при накоплении  $10^5$ - $10^6$  в 1 гр. Инкубационный период от 4 до 16 ч, длительность заболевания 1-2 сут.

## 24.5. Энтерококки

Фекальный стрептококк. Входят в состав нормальной микрофлоры кишечника человека и теплокровных животных, обладают антагонистическими свойствами по отношению к возбудителям кишечных инфекций. У детей количество их в кишечнике больше, чем кишечной палочки. Находятся они также в почве, в воде, на растениях. *Streptococcus fecalis* – полиморфные кокки размером 0,5 – 1 мкм, располагаются попарно, реже короткими цепочками. Спор и капсул не образуют, грамположительные. Энтерококки не требовательны к пит. средам, но лучше растут в присутствии углеводов и факторов роста. *St.fecalis* – факультативный анаэроб, растёт при содержании в среде 6,5% NaCl. Температур. границы его роста от 10 до 45°C. Нагревание до 60-65 °С он выдерживает в теч. 30 мин, при 80-85 °С погибает. Отравления могут быть вызваны различными продуктами. Обнаружение энтерококков служит одним из критериев фекального загрязнения воды и пищевых продуктов.

## 24.6. Клостридиум перфрингенс.

*Clostridium perfringens*. Открыт в 1892 г. М.Уэлчем и Г. Нетталом. Известно шесть типов *Cl.perfringens*: А, В, С, D, Е, F, каждый из которых вызывает заболевание у человека и животных. Различают типы по составу образуемых ими токсинов. Основная роль в возникновении пищевых токсикоинфекций у человека принадлежит типу А. Характеризуются они поносом и болью в животе, иногда тошнотой и лишь у немногих пострадавших — рвотой и повышением температуры тела. Инкубационный период колеблется от 5—6 ч до одних суток. Заболевание длится обычно около суток. *Cl.perfringens* довольно толстые палочки длиной 4-8 мкм, образуют споры, неподвижны, грамположительные. В организме животных и людей образует капсулу. *Cl.perfringens* относится к анаэробным микроорганизмам. Споры выдерживают кипячение в течении 30 - 60 минут, а споры термоустойчивых штаммов до 2-6 часов. Из продуктов животного происхождения наибольшую обсеменённость имеют мясо и мясопродукты, а из растительных – мука и крупа.

### Вопросы для самоконтроля

1. Характеристика пищевых отравлений.
2. Характеристика токсикоинфекций.
3. Характеристика сальмонеллёзов.
4. Характеристика эшерихиозов.
5. Характеристика возбудителей токсикоинфекций из р.*Proteus*
6. Характеристика возбудителей токсикоинфекций - *Bacillus cereus*.
7. Характеристика энтерококков – возбудителей токсикоинфекций.
8. Характеристика возбудителей токсикоинфекций - *Clostridium perfringens*

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

#### Основная

1. **Асонов, Н.Р.** Микробиология / Н.Р. Асонов. – М.: Колос, 2011. – 352 с.
3. **Гусев, М.В.** Микробиология / М.В. Гусев, Л.А. Минаева. – М.: Академия, 2008. – 464 с.
4. **Емцев, В.Т.** Микробиология / В.Т. Емцев, Е.Н. Мишустин. – М.: Дрофа, 2005. – 446 с.
5. **Неверова, О.А.** Пищевая биотехнология продуктов из сырья растительного происхождения. / О.А. Неверова, Г.А. Гореликова, В.М. Поздняковский. – Новосибирск, Сибирское университетское издательство, 2007. – 415 с.

#### Дополнительная

1. **Котова, И.Б., Нетрусов, А.И.** Общая микробиология / И.Б. Котова
2. **Найдёнова, Э.Г.** Пищевая микробиология. Методические указания к выполнению СРС для направления 260100 «Технология продуктов питания» магистерской программы./ Э.Г. Найдёнова. – Улан-Удэ: изд-во ВСГТУ, 2006. – 34 с.
3. **Шлегель, Г.** Общая микробиология / Г. Шлегель. – М.: Мир, 1987, – 568 с.
4. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии / А.А. Воробьёв, [и др.]. – М.: Мастерство; Высшая школа, 2001. – 224 с.

## Лекция № 25

### ЗАБОЛЕВАНИЯ, ПЕРЕДАЮЩИЕСЯ ЧЕРЕЗ ПИЩЕВЫЕ ПРОДУКТЫ. ПИЩЕВЫЕ ОТРАВЛЕНИЯ. ТОКСИКОЗЫ. МИКОТОКСИКОЗЫ.

#### 25.1. Пищевые токсикозы

Пищевыми токсикозами называют пищевые отравления, связанные с употреблением в пищу продуктов, в которых накопился экзотоксин в результате жизнедеятельности токсинообразующих микроорганизмов. Присутствие живых микробов не обязательно.

После употребления человеком продуктов, содержащих экзотоксин, последний всасывается в через желудочно-кишечный тракт в кровь и разносится по всему организму. При этом поражаются в первую очередь сердечно-сосудистая и нервная системы. Появляются головные боли, головокружение, нарушаются зрение, функции сердечно-сосудистой системы и др. Позже появляются признаки нарушения функций желудочно-кишечного тракта – рвота, диарея, боль в области желудка.

Инкубационный период при токсикозах короче, чем при пищевых токсикоинфекциях и составляет несколько часов.

##### 25.1.1. Стафилококки.

Различают несколько видов стафилококков: *Staphylococcus aureus* – золотистый, *S. epidermidis* – назокожный, *S. saprophyticus* – сапрофитный. Пищевые отравления вызываются в основном золотистым стафилококком. *St. aureus* обнаружен Р. Кохом (1878), выделен из гноя фурункула Л. Пастером (1880). Они представляют собой круглые клетки диаметром 0,5-1,5 мкм, располагаются в виде скоплений, напоминающих гроздь винограда. Под влиянием физических, химических и биологических факторов (антибиотиков) в культурах стафилококков могут появляться большие шаровидные или очень мелкие и даже фильтрующиеся формы. Неподвижны, спор и капсул нет (некоторые штаммы могут образовывать капсулу), грамположительны. В старых культурах отдельные клетки могут окрашиваться грамтрицательно. Стафилококки – факультативные анаэробы. Оптимум при температуре 30-37 °С, крайние диапазоны роста 10 -45 °С, рН 7,2 – 7,4. При комнатной температуре, аэрации и рассеянном свете стафилококки вырабатывают золотистые, белые, лимонно-жёлтые и др. пигменты. Стафилококки характеризуются высокой устойчивостью к высушиванию, замораживанию, действия солнечного света и химических веществ. В высушенном состоянии они сохраняются более 6 мес, в пыли 50 - 100 дней. Повторное замораживание и оттаивание не убивает стафилококков. Они не погибают в течение многих часов от действия прямых солнечных лучей, выдерживают нагревание при температуре 70 °С более 1 часа, при 80 °С они погибают через 10-60 мин, от кипячения – мгновенно; 50 % р-р фенола убивает стафилококков в течение 15-30 мин. Стафилококки очень чувствительные к анилиновым красителям, особенно к бриллиантовому зелёному, который успешно применяется при лечении гнойных поражений кожи. Стафилококки могут развиваться в пищевых продуктах при концентрации NaCl 10-15 % и высоком содержании сахара – до 50 %.

Стафилококки синтезируют свыше 25 белков, токсинов и ферментов патогенности, многие штаммы вырабатывают пенициллиназу, разрушающую пенициллины. Среди экзотоксинов выделяют 4 типа гемотоксинов, лейкоцидин, энтеротоксины. Энтеротоксины – термостабильные полипептиды, образующиеся при размножении энтеротоксигенных стафилококков в питательных средах, продуктах питания (молоко, сливки, творог и др.), кишечнике. Наиболее частой причиной пищевых интоксикаций считается энтеротоксин А, устойчивый к нагреванию (2-часовое кипячение) и пищеварительным ферментам. Среди животных к энтеротоксинам чувствительны котята и щенки собак. Основным источником заражения пищевых продуктов – люди, страдающие гнойничковыми заболеваниями кожи, иногда стафилококк попадает в пищу от больных животных, например, в молоко от коров с маститом. Причина отравления - различные продукты (мясные, молочные), внешне не имеют признаков порчи. Наиболее быстро

токсикообразование происходит в молоке, молочной смеси, заварном креме, мясном фарше, рыбных консервах. Инкубационный период от 30 мин. до 6 ч. Типичные симптомы – рвота, боли в области живота, сердечная слабость. Профилактика: отстранение от работы с пищевыми продуктами людей с гнойничковыми поражениями кожи, заболеваниями носоглотки и верхних дыхательных путей, создание условий, исключающих размножение стафилококков и накопление образуемых ими токсинов.

### **25.1.2. Возбудитель ботулизма.**

Ботулизм – это пищевое отравление, относящееся к числу самых тяжёлых заболеваний, связанных с употреблением пищи, инфицированной бактериями и содержащими нейротоксин. Ботулизм при запоздалом распознавании и лечении часто заканчивается смертельным исходом.

Возбудитель ботулизма – *Clostridium botulinum* относится к роду клостридий (лат. *botulus* – колбаса, *botulism* – отравление колбасным ядом). *Clostridium botulinum* был открыт в Голландии Э. ван Эрменгемом в 1896 г. Он выделен из ветчины, послужившей источником отравления 34 человек, и органов умерших. В Западной Европе ботулизм в прошлом связан с употреблением колбасных изделий, в Америке – овощных консервов, в России – красной рыбы и грибов домашнего консервирования.

В настоящее время известно 7 сероваров возбудителя: А, В, С, D, Е различающихся по антигенной структуре, образуемым токсинам и др.

Клостридии представляют собой крупные палочки с закруглёнными концами длиной 4,4-8,6 мкм и шириной 0,3-1,3 мкм, которая иногда образует короткие формы или длинные нити. Возбудитель слабоподвижен, перитрих (4 - 30 жгутиков), грамположительны, капсул не образует. Споры располагаются в клетке субтерминально. Палочка со спорой по виду напоминает теннисную ракетку. Споры возбудителя устойчивы к воздействию внешней среды. Они сохраняют свою жизнеспособность при таких условиях, когда погибают все другие живые организмы. Споры выдерживают кипячение до 6 ч, при температуре 115 °С гибнут в течение 5 – 40 мин, при 120 °С – за 3 – 22 мин. В больших кусках мяса, в банках большой ёмкости они могут оставаться живыми и после автоклавирования их при 120 °С 15 минут. Споры сохраняют жизнеспособность в 1% р-ре фенола до 1 суток, спирте в течении 2 мес, противостоят действию кислот и формалина. Высокоустойчивы к замораживанию, длительно сохраняется в воде, в консервах – 6-8 мес.

Строгий анаэроб, оптимальная температура 30-37 °С. Условия, благоприятные для размножения возбудителя ботулизма и накопления токсина, создаются в герметичных закрытых банках, в глубинных участках твёрдых пищевых продуктов. Возбудитель ботулизма образует два основных типа токсинов: гемолизин и экзотоксин (нейротоксин). Нейротоксин очень большой силы действия.

**25.2. Микотоксикозы** – это пищевые отравления, вызываемые микроскопическими грибами, поражающими зерновые культуры на корню или при неблагоприятных условиях их хранения. Различают две группы микотоксикозов: отравление токсинами грибов, паразитирующих на вегетативных растениях, и отравления токсинами грибов-сапрофитов, поражающих корма во время их хранения. В настоящее время микотоксикозы регистрируются крайне редко.

К микотоксикозам относится – *эрготизм* – отравление спорыньей. Возбудитель – грибы *Claviceps purpurea* и *Claviceps microcephala*, поражающие рожь, ячмень, овёс, пшеницу вовремя вегетации. Спорынья имеет вид изогнутых рожков темно-фиолетового цвета длиной 1-3 см, толщиной около 4 мм. Токсические свойства спорыньи зависят от наличия в ней ряда ядовитых веществ, в том числе более 40 алкалоидов (эргоновин, эргозин), обладающих высокой степенью биологической активности. У животных токсины спорыньи вызывают нервные симптомы, гангрену, диарею, хромоту, тремор, слепоту. Продолжительное употребление человеком хлеба, выпеченного из муки, содержащей спорынью, вызывает хроническое отравление: бессонницу, боли в животе,

головокружение, рвоту и потерю аппетита. В настоящее время эрготизм встречается редко.

*Фузариотоксикозы* возникают в результате употребления в пищу продуктов из перезимовавших в поле злаков (рожь, пшеница, просо) и зараженных грибами рода *Fusarium*. В настоящее время выделено 3 типа фюзариотоксикозов: споротрихеллотоксикозы (*F.sporotrichiella*), фузариограминеаротоксикозы (*F.graminerum*), фузарионивалетоксикозы (*F.nivale*). У животных токсины грибов, поступая с кормом в пищеварительный тракт, проникают в кровеносную систему и разносятся по всему организму. В первую очередь поражается центральная нервная система, костный мозг. У человека внешними признаками отравления являются поражение миндалин, мягкого неба и задней стенки глотки с развитием некротических процессов, кровоизлияние на коже, мелкие серозно-кровоянистые пузырьки на участках кожи, на слизистой оболочке рта.

*Афлотоксикозы* - отравления, вызываемые афлотоксинами, представляющими собой токсические вещества, которые образуются микроскопическими грибами рода *Penicillium* и *Aspergillus (A.flavus)*. Они обладают гепатотропным и канцерогенными свойствами и впервые были выделены из арахиса, а затем обнаружены в пшенице, кукурузе, рисе, гречихе и в других злаках, особенно находящихся в состоянии увлажнения, самосогревания и плесневения. Иногда афлотоксины находили в овощах, копченой и сушеной рыбе. LD<sub>50</sub> афлотоксинов для утят и кроликов составляет 0,4 мг/кг и вызывает у них атрофию печени. Афлотоксины обладают местным и общим действием. Местный процесс характеризуется воспалением кожи, слизистых оболочек, общее действие – поражение ЦНС, иммунной системы. В концентрациях, опасных для здоровья, они вызывают тяжелые поражения печени, вплоть до некроза. Основной мерой профилактики микотоксикозов является создание правильных условий хранения продуктов.

### Вопросы для самоконтроля

1. Характеристика токсикозов.
2. Характеристика токсикозов из р.*Staphylococcus*.
3. Характеристика *Clostridium botulinum* – возбудителя токсикоза.
4. Характеристика возбудителей микотоксикозов.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Ассонов, Н.Р.** Микробиология / Н.Р. Ассонов. – М.: Колос, 2011. – 352 с.
2. **Гусев, М.В.** Микробиология / М.В. Гусев, Л.А. Минаева. – М.: Академия, 2008. – 464 с.
3. **Емцев, В.Т.** Микробиология / В.Т. Емцев, Е.Н. Мишустин. – М.: Дрофа, 2005. – 446 с.
4. **Неверова, О.А.** Пищевая биотехнология продуктов из сырья растительного происхождения. / О.А. Неверова, Г.А. Гореликова, В.М. Поздняковский. – Новосибирск, Сибирское университетское издательство, 2007. – 415 с.

#### Дополнительная

1. **Котова, И.Б., Нетрусов, А.И.** Общая микробиология / И.Б. Котова
2. **Найдёнова, Э.Г.** Пищевая микробиология. Методические указания к выполнению СРС для направления 260100 «Технология продуктов питания» магистерской программы./ Э.Г. Найдёнова. – Улан-Удэ: изд-во ВСГТУ, 2006. – 34 с.
3. **Шлегель, Г.** Общая микробиология / Г. Шлегель. – М.: Мир, 1987, – 568 с.
4. **Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии / А.А. Воробьёв, [и др.].** – М.: Мастерство; Высшая школа, 2001. – 224 с.

## Лекция 26

### ПРИМЕНЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ И ПРОДУКТОВ ИХ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ В НАРОДНОМ ХОЗЯЙСТВЕ

Несведующий в микробиологии видит практическое значение микроорганизмов в первую очередь во вреде, который они причиняют человеку. Однако, их роль как полезных организмов существенно преобладает. Микроорганизмы, обладая широким набором разнообразных ферментных систем, способны образовывать в процессе жизнедеятельности различные продукты обмена, весьма ценные для практической деятельности человека.

#### **26.1. Классические микробиологические производства.**

Человек с древних времён интуитивно использовал уникальные особенности микроорганизмов, даже не подозревая об этом. С давних пор процессы брожения применялись для приготовления теста для хлеба, пива, вина, уксуса, кисломолочных продуктов, росяной мочке льна. Это только в настоящее время стало известно, что все эти процессы происходят при участии определённых микроорганизмов, которые присутствуют на используемых для брожения субстратах.

Если не считать получения этанола, в промышленном производстве индивидуальных веществ микроорганизмы начали использовать лишь в последние 80 лет. Уже в период первой мировой войны с помощью управляемого дрожжевого брожения получали глицерин. Молочная и лимонная кислота, в больших количествах необходимые для пищевой промышленности, производятся с помощью молочнокислых бактерий и гриба *Aspergillus niger* соответственно. Из дешёвых, богатых углеводами отходов путём брожения, осуществляемого клостридиями и бациллами, можно получать ацетон, бутанол, пропандиол, бутандиол и другие химические соединения.

#### **26.2. Производство антибиотиков.**

С появлением антибиотиков наступила новая эпоха в медицине и фармацевтической промышленности. Начало бурного развития микробиологической промышленности связано с разработкой в 40-х годах XX века промышленного получения антибиотиков. Индустриальное производство этого очень ценного антибиотика и его широкое применение в медицинской практике послужило мощным стимулом поиска новых антибиотических веществ и разработки более совершенных методов их промышленного получения. Следует подчеркнуть, что большой размах получил в последние годы выпуск химически модифицированных антибиотических средств.

#### **26.3. Новые микробные производства.**

Классические виды брожения дополняются новыми применениями микробов в химических производствах. Изучение биосинтетической деятельности микроорганизмов позволило установить их способность к синтезу самых разнообразных соединений, имеющих большое народнохозяйственное значение. Вслед за развитием антибиотической промышленности на основе её опыта быстрое развитие получили такие отрасли как производство аминокислот и других активных соединений, синтезируемых микроорганизмами. Из грибов получают каротиноиды и стероиды. Когда выяснилось, что *Corynebacterium glutamicum* из сахара и соли аммония с большим выходом глутаминовую кислоту, были получены мутанты и разработаны методы, с помощью которых можно в больших масштабах производить многие аминокислоты, нуклеотиды и реактивы для биохимических исследований. Микроорганизмы используются химиками в качестве катализаторов для осуществления некоторых этапов в длинной цепи реакций синтеза. Микробиологические процессы по своей химической специфичности и по выходу продукта превосходят химические реакции. Из культур микроорганизмов получают ферменты, применяемые в промышленности, - амилазы для гидролиза крахмала, протеиназы для обработки кож, пектиназы – для осветления фруктовых соков и другие. Также, в настоящее время с помощью микроорганизмов в промышленных масштабах

получают: аминокислоты (глутаминовая, треонин, лизин, пролин, глутамин), витамины (В<sub>12</sub>, рибофлавин), ферменты (целлюлазы, липазы, изомеразы, трипсин), интерферон, инсулин, гормон роста человека, органические кислоты (масляную, уксусную, глюконовую), глицерин, полисахариды (декстарны, ксантаны, пуллуан, альгинат), средства защиты растений, картизон, преднизалон, гидрокартизон ряд других ценных продуктов.

Особенно большой размах в последнее десятилетие получило производство микробного белка – этого крайне необходимого продукта, широко используемого в сельском хозяйстве. В настоящее время в нашей стране производится около 1 млн. т. микробного белка, а в дальнейшем его количество должно существенно увеличиться, так как потребность народного хозяйства в кормовом белке значительно возрастает. Этот ценнейший продукт получают в результате использования микроорганизмами непищевых веществ (парафинов, отходов молочной, мясной промышленности).

#### **26.4. Монопольное положение микроорганизмов.**

Следует отметить, что некоторые виды сырья, доступные в особенно больших количествах, такие как нефть, природный газ или целлюлоза, могут использоваться микроорганизмами и перерабатываться ими в клеточный материал (биомассу) или в промежуточные продукты, выделяемые клетками. Микроорганизмы, таким образом, незаменимы при «облагораживании» этих необычных видов сырья для биотехнологических процессов; освоение такого сырья биологическими технологиями только начато. Микробиология внедрилась в такие нетрадиционно небиологические производства, как получение энергетического сырья (биогаз метан), добыча нефти, что вносит существенный вклад в решение топливно-энергетической проблемы. Микроорганизмы способны повышать прочность бетона: установлено что добавление на тонну бетона несколько килограммов биомассы микроорганизмов повышает прочность и пластичность строительного материала.

#### **26.5. Современные достижения генной инженерии.**

В связи с широким использованием микроорганизмов – продуцентов разнообразных продуктов их жизнедеятельности – первоочередными следует назвать задачи получения их высокопродуктивных штаммов, обладающих ценными биосинтетическими свойствами. Эти задачи в тесном контакте с микробиологами решают генетики, а также специалисты, владеющие методами генетической рекомбинации. Изучение механизмов передачи генов у бактерий и участие в этом процессе внехромосомных элементов открыло возможность включения чужеродной ДНК в бактериальные клетки. Генетические манипуляции позволяют вносить небольшие отрезки носителей генетической информации высших организмов, например человека, в бактерию и заставлять её синтезировать соответствующие белки. Основные элементы, без которых генно-инженерные манипуляции невозможны:

1) В первую очередь необходимо иметь хорошо отработанную систему хозяин – вектор. Под вектором понимается небольшая молекула ДНК, способная к автономной репликации в определённом микроорганизме. Это может быть бактериофаг или плазида.

2) Во-вторых, необходимо иметь эффективный способ введения векторной и рекомбинантной молекулы в микроорганизм.

В настоящее время векторные системы очень хорошо разработаны для такой бактерии, как *Escherichia coli*. Задача прикладной микробиологии – освоение систем хозяин – вектор для промышленных микроорганизмов: бацилл, псевдомонад, актиномицетов, дрожжей и др.

С помощью генной инженерии вполне осуществимо производство гормонов, антигенов, антител и других белков с помощью бактерий. Делаются также попытки передать растениям способность к азотфиксации и лечить болезни, связанные с биохимическими дефектами.

#### **26.6. Микробиология и здравоохранение.**

Успехи в области микробиологии открыли новые возможности в профилактике и лечении многих инфекционных заболеваний, в борьбе с которыми ранее медицина была бессильна. За сравнительно небольшой период времени почти полностью ликвидированы такие заболевания как чума, оспа, холера, малярия, являющиеся в прошлом бичом человечества. В настоящее время внимание микробиологов сосредоточено на проблеме злокачественных опухолей и синдроме приобретённого иммунодефицита. Изучение свойств патогенных микроорганизмов позволило получать в промышленных масштабах вакцины, сыворотки и другие лечебные препараты.

Следует отметить, что ещё имеются большие возможности, основанные на применении микроорганизмов, для расширения и совершенствования биотехнологических процессов. Решение таких актуальных проблем человечества как обеспечение человечества продуктами питания, возобновление энергетических ресурсов, охрана окружающей среды так или иначе связано с использованием микроорганизмов.

Таким образом, микробиология вносит существенный вклад в решение многих практических задач, проблем здравоохранения и сельского хозяйства, способствует развитию определённых отраслей промышленности.

### Вопросы для самоконтроля

1. Перечислите классические микробиологические производства.
2. Охарактеризуйте производство антибиотиков.
3. Перечислите новые микробные производства.
4. Монопольное положение микроорганизмов.
5. Связь микробиологии и здравоохранения.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Ассонов, Н.Р.** Микробиология / Н.Р. Ассонов. – М.: Колос, 2011. – 352 с.
2. **Гусев, М.В.** Микробиология / М.В. Гусев, Л.А. Минаева. – М.: Академия, 2008. – 464 с.
3. **Емцев, В.Т.** Микробиология / В.Т. Емцев, Е.Н. Мишустин. – М.: Дрофа, 2005. – 446 с.
4. **Неверова, О.А.** Пищевая биотехнология продуктов из сырья растительного происхождения. / О.А. Неверова, Г.А. Гореликова, В.М. Поздняковский. – Новосибирск, Сибирское университетское издательство, 2007. – 415 с.

#### *Дополнительная*

1. **Котова, И.Б., Нетрусов, А.И.** Общая микробиология / И.Б. Котова
2. **Найдёнова, Э.Г.** Пищевая микробиология. Методические указания к выполнению СРС для направления 260100 «Технология продуктов питания» магистерской программы. / Э.Г. Найдёнова. – Улан-Удэ: изд-во ВСГТУ, 2006. – 34 с.
3. **Шлегель, Г.** Общая микробиология / Г. Шлегель. – М.: Мир, 1987, – 568 с.
4. **Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии / А.А. Воробьёв, [и др.].** – М.: Мастерство; Высшая школа, 2001. – 224 с.

## СОВРЕМЕННАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ И ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ

В самом широком смысле под биотехнологией понимают все виды деятельности человека, при которых из какого-либо сырья получают те или иные продукты, но с помощью живых организмов или образуемых ими веществ (например, ферментов).

В 1973 году Стенли Коэну и Герберту Бойеру удалось объединить в одну молекулу фрагменты ДНК из разных организмов, и эта молекула существовала, функционировала и передавалась по наследству дочерним клеткам размножающихся бактерий. С этого времени и ведется отсчет нового направления человеческой деятельности – технологии рекомбинантных ДНК, в дальнейшем получившей название генетической инженерии.

### 27.1 Рестриктазы как инструмент генетической инженерии

Основополагающим в развитии генетической инженерии стало открытие группы ферментов, способных разъединять молекулы ДНК на фрагменты. О существовании таких ферментов стало известно в результате экспериментов по изучению размножения вирусов бактериофагов. Каждый конкретный вид вирусов способен проникать только в клетки определенных видов, что связано, с особенностями поверхностных структур капсида вируса и клетки-хозяина. Для клетки присутствие таких «гостей» крайне нежелательно, поэтому в процессе эволюции у организмов выработался особый способ защиты от чужеродных нуклеиновых кислот, попадающих в их цитоплазму. Эта защита определяется присутствием в клетке особых ферментов - эндонуклеаз, способных «узнавать» и разрушать чужие молекулы ДНК. Такие ферменты способны разрывать ковалентные связи между нуклеотидами в цепи ДНК, причем такое разрушение молекул осуществляется специфически, только в конкретных участках, представляющих определенную последовательность нуклеотидов.

Учитывая то, что такое воздействия на вирусную ДНК ограничивает размножение вирусов, такие ферменты с момента их открытия стали называть рестриктазами (от англ. *restriction* – ограничение). Этот термин в современной молекулярной биологии используется на равных с термином эндонуклеазы.

Открытие вышеописанного механизма защиты от вирусов, да и вообще от любой чужеродной генетической информации оказалось важным не только чисто в теоретическом плане, но и в плане развития генетической инженерии. Оказалось, что выделенные из клеток различных видов бактерий эндонуклеазы способны разъединять молекулы ДНК и вне клетки, как говорят биологи *in vitro*. А это означало, что можно, используя конкретную рестриктазу разделить множество одинаковых молекул ДНК на одинаковые фрагменты. Фактически, открытие рестриктаз дало в руки генетическим инженерам своеобразные волшебные ножницы, позволяющие правильно нарезать невидимые глазом молекулы.

Фрагментация ДНК, называемая в генетической инженерии рестрикцией, необходима для того, чтобы отобрать из полученных небольших участков те, которые содержат интересующую генных инженеров наследственную информацию, и далее использовать их для объединения с ДНК другого организма.

### 27.2 Разделение фрагментов ДНК по размерам и обнаружение фрагментов с определенной последовательностью нуклеотидов

Для первоначального разделения полученных в результате действия рестриктаз фрагментов ДНК используют метод, получивший название гель-электрофорез. Метод основан на том, что молекулы ДНК в растворе солей определенной концентрации имеют на своей поверхности отрицательные заряды. При пропускании через раствор постоянного электрического тока хаотическое (броуновское) движение молекул меняется на направленное перемещение их к положительно заряженному электроду. Если такое воздействие осуществляется не в обычном водном растворе, а в желеобразной массе

застывшего 1% раствора агарозы, молекулы ДНК различного размера движутся с различными скоростями – чем длиннее молекула, тем медленнее она движется, поскольку испытывает больше соударений с образовавшимися гелевыми частицами агарозы.

Метод гибридизации молекул ДНК, заключающийся в следующем. Полученные в результате действия рестриктаз и разделенные по размерам с помощью электрофореза фрагменты переносят на специальный нитроцеллюлозный фильтр, но таким образом, чтобы порядок их расположения в геле сохранялся и на фильтре. Это легко достигается наложением фильтра на гель и созданием условий для движения молекул в сторону фильтра. Затем фильтр в специальном растворе нагревают до температуры, при которой молекулы ДНК становятся одонитевыми, и вносят в раствор заранее подготовленные одонитевые фрагменты ДНК, последовательность нуклеотидов в которых соответствует конкретному гену. Но эти ДНК особые – их нуклеотиды содержат радиоактивные изотопы какого-либо входящего в нуклеотид химического элемента, чаще всего фосфора. После этого температуру понижают, и происходит ренатурация, т.е. восстановление двунитевых молекул. Часть таких молекул будет включать не исходные нерадиоактивные нити, а те, которые были специально внесены в раствор. После проявления фотопластинки на ней будут заметны темные пятна засвеченной радиоактивным излучением эмульсии. Сопоставив расположение пятен с расположением фрагментов ДНК в геле, легко установить, во фрагментах какого размера находится искомый ген. Именно эти фрагменты и используют в дальнейшей работе.

### **27.3 Понятие о плаزمиде и векторе как инструментах генетической инженерии. Клонирование генов**

Для целей генетической инженерии важным оказалось и то, что некоторые плазмиды могут присутствовать в одной бактериальной клетке в нескольких (иногда десятках) экземплярах (копиях) и реплицируются (т.е. удваиваются) чаще, чем бактериальная хромосома. Вот в такие так называемые многокопийные плазмиды и внедряют нужный ген, если хотят его, условно говоря, размножить.

Если подобрать такую рестриктазу, чтобы она разрежала кольцевую молекулу только в одном месте, то плазмидная ДНК превратится в линейную. ДНК, в которой находится нужный генному инженеру ген, необходимо также обработать такой же рестриктазой, тогда в ней тоже образуются так называемые «липкие концы». Дело в том, что двунитевая молекула ДНК разделяется большинством рестриктаз ступенчато, то есть так, что на концах молекулы остаются небольшие, протяженностью в несколько нуклеотидов, одонитевые участки, причем нуклеотиды таких участков комплементарны друг другу.

Поскольку одинаковые «липкие концы» образуются и в плазмидной ДНК и в ДНК, содержащей нужный ген, возможно объединение двух таких разных молекул в одну, причем такая ДНК замкнется в кольцо. Возникнет плаزمид, в составе которой окажется фрагмент ДНК с нужным геном. Однако, для того, чтобы такое объединение было прочным, одних водородных связей между азотистыми основаниями нуклеотидов недостаточно. Необходимо связать объединившиеся за счет «липких концов» цепи ковалентными связями между дезоксирибозой и остатками фосфорной кислоты в каждой из нитей. Такую реакцию катализирует еще один широко используемый в генетической инженерии фермент – ДНК-лигаза (от *ligament* – связка). Суммируя все выше сказанное, процедуру объединения молекул ДНК можно описать следующим образом. ДНК бактериальной плазмиды и содержащую нужный ген ДНК обрабатывают одной и той же рестриктазой в отдельных пробирках. Затем контролируют с помощью электрофореза наличие в каждой пробирке фрагментов ДНК и после этого объединяют два раствора. Добавляют лигазу и проводят реакцию с ее участием. Это последний этап называется лигирование.

Поскольку участвующие в реакции молекулы ДНК объединяются по «липким концам» случайным образом, в пробирке образуется три типа молекул: 1) вновь

объединившиеся фрагменты содержащей нужный ген ДНК; 2) замкнувшиеся в кольцо молекулы исходной плазмидной ДНК; 3) кольцевые молекулы, состоящие из плазмидной ДНК и присоединенного к ней фрагмента с нужным геном.

Конкретные имеющие тот или иной чужеродный для них ген бактерии обычно называют клоном, то есть совокупностью одинаковых по содержащейся в них наследственной информации клеток.

#### **27.4 Перенос генов в клетки организма-хозяина.**

Передача генов, встроенных в плазмиду, осуществляется путём конъюгации или трансформации, встроенных в вирус только путём трансформацией.

Трансформация – это перенос свободной ДНК в реципиентную клетку. При этом происходит рекомбинация и интегрирование одонитевого фрагмента ДНК в хромосому реципиента.

Генетический материал, проникающий в клетку, может быть атакован внутриклеточными нуклеазами. Необходимо: 1) подавлять активность или синтез нуклеаз (трансформация клеток *E.coli* с высокой эффективностью была проведена при использовании мутантов, дефектных по нуклеазам) и 2) включать трансформирующую ДНК в липосомы – искусственные мембранные липидные везикулы.

Ti- и Ri-плазмиды *Rhizobium* и *Agrobacterium* трансплантируются в протопласты растительных клеток путём трансформации.

Трансформация представляет собой наиболее универсальный путь передачи генетической информации, она имеет наибольшее значение для генетической инженерии. Конъюгацию и трансфекцию можно рассматривать как варианты трансформации, осложнённой наличием специальных приспособлений для эффективного переноса генов.

Путём конъюгации происходит перенос лишь некоторых плазмид (конъюгативных). В этом случае информация перекачивается из одной клетки бактерий (мужской, донорной) в другую клетку (женскую, реципиентную) по половым ворсинкам.

Под трансфекцией понимают передачу всего набора генов вируса или фага, приводящую к развитию вирусных частиц в клетке. В генетической инженерии методика проведения трансфекции включает в приложении к бактериям получение сферопластов, очистку среды инкубации от внеклеточных нуклеаз и добавление очищенной ДНК того или иного фага в сочетании с протаминсульфатом, повышающим эффективность трансфекции. Для стабилизации сферопластов добавляют спермин. Трансфекция клеток растений и животных соответствующими векторами вирусной природы может быть проведена как при использовании очищенной ДНК и протопластов, так и при заражении целых многоклеточных организмов вирусными частицами или их ДНК.

#### **27.5 Идентификация клеток-реципиентов, которые приобрели желаемый ген**

После трансформации, конъюгации или трансфекции необходимо идентифицировать клетки, несущие ген-мишень. Успех генно-инженерного проекта часто зависит от эффективности использованного метода отбора.

Отбор клеток проводят в 2 стадии.

Первая стадия – отбор клеток, несущих соответствующий вектор. Такой отбор проводится по генетическим маркерам, которыми помечен вектор. Так, детерминанты устойчивости к антибиотикам на векторе позволяют обогатить бактериальную популяцию клетками, содержащими этот вектор, при их высеве на среду с антибиотиками.

Вторая стадия – поиск клеток, несущих не только вектор, но и ген-мишень. Для этого используют 2 группы методов.

1. Методы, основанные на непосредственном анализе ДНК клеток-реципиентов: а) определение нуклеотидной последовательности ДНК; из клеток, предположительно содержащих искомый ген, выделяют ДНК вектора, в которой проводится поиск участков, несущих этот ген; затем проводят секвенирование нуклеотидной последовательности гена; б) гибридизация выделенной из клетки ДНК с зондом, который может быть или

интересующим нас геном, или соответствующей ему мРНК. Предварительно изолированную ДНК переводят в одноцепочечное состояние и вводят её во взаимодействие с одноцепочечным ДНК-(или РНК-)зондом. Далее определяют присутствие двуцепочечных гибридных молекул ДНК.

2. Методы, основанные на идентификации признака, колируемого геном: а) непосредственный отбор клеток, синтезирующих белок – продукт транскрипции и трансляции гена-мишени, или клеток, образующих соединения, в синтезе которого участвуют ферменты, кодируемые геном, – так отбирали дрожжи, синтезирующие гистидин, из популяции клеток, трансформированных плазмидами; б) использование селективных сред, поддерживающих рост только тех клеток, которые получили ген-мишень; например, клетки-реципиенты, несущие ген  $\beta$ -галактозидазы (фермент, необходимый для утилизации лактозы), могут быть отобраны путём выращивания бактериальных клеток на среде с лактозой в качестве единственного источника углерода; в) иммунологическая детекция: применяется, если искомым ген в составе рекомбинантной ДНК транскрибируется и транслируется, но никак не влияет на фенотип организма; например, если ген кодирует  $\alpha$ -интерферон человека, бактериальные клетки лизируют, а затем проводят реакцию связывания антигена с антителами к  $\alpha$ -интерферону.

### **27.6 Генная инженерия и конструирование новых организмов-продуцентов.**

С помощью методов генетической инженерии можно конструировать по определённому плану новые формы микроорганизмов, способных синтезировать самые различные продукты, в том числе продукты животного и растительного происхождения. При этом следует учитывать высокие скорости роста и продуктивность микроорганизмов, их способность к утилизации разнообразных видов сырья. Широкие перспективы перед биотехнологией открывает возможность микробиологического синтеза белков человека: соматостатин, интерферон, инсулин, гормон роста.

Проблемы на пути конструирования новых микроорганизмов-продуцентов:

1. Продукты генов растительного, животного и человеческого происхождения попадают в чужую для них внутриклеточную среду, где они подвергаются разрушению микробными протеазами. Стратегия защиты генноинженерных белков: а) использование ингибиторов протеаз; б) получение интересующего пептида в составе гибридной белковой молекулы, для этого ген пептида сшивают с природным геном организма-реципиента;

2. Продукт трансплантированного гена не высвобождается в культуральную среду и накапливается внутри клетки, что затрудняет его выделение. Так, принятый метод получения инсулина с помощью *E. coli* предполагает разрушение клеток и последующую очистку инсулина. Поэтому большое значение придаётся трансплантации генов, отвечающих за экскрецию белков из клеток. *E. coli* экскретирует мало белков, поэтому происходит переориентация с *E. coli* на другие объекты: *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Streptomyces*). В частности, *B. subtilis* выделяет более 50 различных белков в культуральную среду. В их число входят ферменты, инсектициды, а также антибиотики. Перспективны также эукариотические организмы. Они обладают рядом преимуществ. Например, дрожжевой ИФ синтезируется в гликолизированной форме, как и нативный человеческий ИФ.

3. Большинство наследственных признаков кодируется несколькими генами, и генноинженерная разработка должна включать стадии последовательной трансплантации каждого из генов. Примером реализованного многогенного продукта является создание штамма *Pseudomonas*, способного утилизировать сырую нефть. С помощью плазмид штамм последовательно обогащался генами ферментов, расщепляющих октан, камфору, ксилон, нафталин. В некоторых случаях возможна не последовательная, а одновременная трансплантация целых блоков генов с помощью 1 плазмиды, например в составе 1 плазмиды м. б. перенесён в кл.-реципиент *nif*-оперона *Klebsiella pneumoniae*, отвечающий за фиксацию азота.

К настоящему времени генетическая инженерия освоила все царства живого. Удобными, хорошо изученными и промышленно ценными объектами генетической

инженерии служат дрожжи родов *Saccharomyces*, *Zygomonas* (для получения этанола), *Candida*, *Pichia*, *Cryptococcus* (для получения биомассы и микробного белка). К числу успешных генноинженерных разработок можно отнести введение в дрожжи генов, кодирующих  $\alpha$ -интерферон, поверхностный антиген вируса гепатита В человека, оперон, отвечающий за азотфиксацию *Klebsiella pneumoniae*. Ведутся генноинженерные работы с грибами как продуцентами антибиотиков. Имеется проект по трансформации *Aspergillus nidulans* с целью передачи ему свойств продуцента пенициллина, тогда как природные штаммы синтезируют небольшие количества этого антибиотика.

Генетическая инженерия растений осуществляется на организменном, тканевом и клеточном уровнях. Примером реализованного генноинженерного проекта является синтез фазеолина, запасного белка фасоли, в регенерированных растениях табака. Трансплантация гена, отвечающего за синтез фазеолина, была проведена с использованием Ti-плазмиды в качестве вектора. С помощью Ti-плазмиды трансплантирован ген устойчивости к антибиотику неомицину в растения табака.

Пути развития генетической инженерии растений: 1) обогащение культурных растений дополнительными запасными веществами (зеин, секалин, глютен, леугмин, альбумин) с помощью генов, взятых от других растений; 2) повышение эффективности фотосинтеза растений на основе генов рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазы, хлорофилл а/б-связывающих белков и т.д.; 3) изменение азотного метаболизма, например, с использованием генов, кодирующих глутамин-синтазу, участвующую в запасании азота; 4) придание устойчивости к гербицидам, засолению почв, повышенной и пониженной температуры и т.д. Помимо этого, растения могут использоваться для получения б-в человека – инсулина, ИФ, гор роста

### Вопросы для самоконтроля

1. Что такое рестриктазы?
2. Какими методами происходит разделение фрагментов ДНК.
3. Что такое вектор?
4. Как происходит перенос гена в клетки организма хозяина.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Асонов, Н.Р.** Микробиология / Н.Р. Асонов. – М.: Колос, 2011. – 352 с.
2. **Гусев, М.В.** Микробиология / М.В. Гусев, Л.А. Минаева. – М.: Академия, 2008. – 464 с.
3. **Емцев, В.Т.** Микробиология / В.Т. Емцев, Е.Н. Мишустин. – М.: Дрофа, 2005. – 446 с.
4. **Неверова, О.А.** Пищевая биотехнология продуктов из сырья растительного происхождения. / О.А. Неверова, Г.А. Гореликова, В.М. Поздняковский. – Новосибирск, Сибирское университетское издательство, 2007. – 415 с.

#### Дополнительная

1. Биотехнология в 8 книгах. Книга 1. Проблемы и перспективы Под ред. Н.С. Егорова, В.Д. Самуилова. М.: Высшая школа, 1987– 159 с.
2. **Котова, И.Б., Нетрусов, А.И.** Общая микробиология / И.Б. Котова
3. **Найдёнова, Э.Г.** Пищевая микробиология. Методические указания к выполнению СРС для направления 260100 «Технология продуктов питания» магистерской программы./ Э.Г. Найдёнова. – Улан-Удэ: изд-во ВСГТУ, 2006. – 34 с.
4. **Песнякевич, А.Г.** Современная биотехнология и генетическая инженерия. / А.Г. Песнякевич. – Минск: БГУ, 2010 – 82 с.
5. **Шлегель, Г.** Общая микробиология / Г. Шлегель. – М.: Мир, 1987, – 568 с.
6. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии / А.А. Воробьёв, [и др.]. – М.: Мастерство; Высшая школа, 2001. – 224 с.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Асонов, Н.Р.* Микробиология./ Н.Р. Асонов – М.: Колос, 2011. – 352 с.
2. Биотехнология в 8 книгах. Книга 1. Проблемы и перспективы Под ред. Н.С, Егорова, В.Д. Самуилова. М.: Высшая школа, 1987– 159 с.
3. Ботаника: Курс альгологии и микологии. Под ред. Ю. Т. Дьякова. — М.: Издательство МГУ, 2007
4. *Глик, Б.,* Молекулярная биотехнология. Принципы применения./ Б.Глик, Д. Пастернак. – М.: Мир, 2002. – 589 с.
5. *Готшлак, Г.* Метаболизм бактерий. / Г. Готшлак. – М.: Мир, 1982. – 310 с.
6. *Громов, Б.В.* Строение бактерий./ Б.В. Громов. – Л: Изд-во ЛГУ, 1985. – 189 с.
7. *Гусев, М.В.* Микробиология./ М.В. Гусев, Л.А. Минаева. – М.: Академия, 2008. – 464 с.
8. *Емцев, В.Т.* Микробиология./ В.Т. Емцев, Е.Н. Мишустин. – М.: Дрофа, 2005. – 446 с.
9. *Котова, И.Б.* Общая микробиология./ И.Б. Котова, А.И. Нетрусов. – М.: Академия, 2007. – 288 с.
10. Краткий определитель Берги. – М.: Мир, 1980. – 496 с.
11. *Найдёнова, Э.Г.* Пищевая микробиология. Методические указания к выполнению СРС для направления 260100 «Технология продуктов питания» магистерской программы./ Э.Г. Найдёнова. – Улан-Удэ: изд-во ВСГТУ, 2006. – 34 с.
12. *Неверова, О.А.* Пищевая биотехнология продуктов из сырья растительного происхождения. / О.А. Неверова, Г.А. Гореликова, В.М. Поздняковский.– Но-восибирск, Сибирское университетское издательство, 2007. – 415 с.
13. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии./ А.А. Воробьёв [и др.]. – М.: Мастерство; Высшая школа, 2001. – 224 с.
14. *Шлегель, Г.* Общая микробиология./ Г. Шлегель. – М.: Мир, 1987, – 568 с.

## СОДЕРЖАНИЕ

Введение.....	3
Лекция 1. Введение. Предмет и задачи микробиологии. Исторический очерк развития науки. ....	4
Лекция 2. Классификация и систематика микроорганизмов. ....	9
Лекция 3 Общая характеристика микроорганизмов. Вирусология.....	12
Лекция 4 Общая характеристика микроорганизмов. Микология и актиномицеты.....	15
Лекция 5 Общая характеристика микроорганизмов. Лихенология и альгология..	19
Лекция 6 – 7 . Клеточная и субклеточная организация эукариот и прокариот.....	25
Лекция 8. Химический состав клетки. Рост, размножение и питание прокариот.....	31
Лекция 9. Обмен веществ у бактерий. Дыхание микроорганизмов. ....	35
Лекция 10. Брожение.....	39
Лекция 11 Генетика микроорганизмов.....	44
Лекция 12 Регуляция метаболизма.....	51
Лекция 13. Роль микробов в круговороте веществ в природе.....	55
Лекция 14. Влияние физических и химических факторов на рост микроорганизмов.....	59
Лекция 15. Влияние биологических факторов на рост микроорганизмов. Принципы переработки и хранения сельскохозяйственной продукции.....	63
Лекция 16. Микрофлора воды, воздуха, почвы .....	67
Лекция 17. Микрофлора организма животных и человека. ....	71
Лекция 18. Инфекция.....	75
Лекция 19 Патогенность и вирулентность.....	80
Лекция 20 Возбудители заболеваний сельскохозяйственных животных.....	84
Лекция 21. Понятие об иммунитете.....	89
Лекция 22. Санитарная микробиология.....	93
Лекция 23. Заболевания, передающиеся через пищевые продукты. Пищевые инфекции.....	97
Лекция 24. Заболевания, передающиеся через пищевые продукты. Пищевые отравления. Токсикоинфекции.....	101
Лекция 25. Заболевания, передающиеся через пищевые продукты. Пищевые отравления. Токсикозы и микотоксикозы.....	105
Лекция 26. Применение микроорганизмов и продуктов их жизнедеятельности в народном хозяйстве.....	109
Лекция 27 Современная биотехнология и генная инженерия.....	112
Библиографический список.....	118
Содержание.....	119