

**Государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего профессионального образования  
“Уральский государственный медицинский университет”  
Министерства здравоохранения Российской Федерации**

**Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии**

**Литусов Н.В.**

## **ФИЗИОЛОГИЯ БАКТЕРИЙ**

**Иллюстрированное учебное пособие**

**Екатеринбург  
2015**

УДК 579

Рецензент: профессор кафедры эпидемиологии ГБОУ ВПО УГМУ доктор медицинских наук профессор Слободенюк А.В.

Литусов Н.В. Физиология бактерий. Иллюстрированное учебное пособие. – Екатеринбург: Изд-во УГМУ, 2015. – 43 с.

Иллюстрированное учебное пособие “Физиология бактерий” подготовлено в качестве информационного сопровождения самостоятельной работы студентов, осваивающих дисциплины “Микробиология”, “Микробиология, вирусология”, “Микробиология, вирусология, иммунология”.

В иллюстрированном учебном пособии приводятся сведения по химическому составу, питанию, дыханию, росту и размножению бактерий, а также сведения об основных питательных средах, используемых в лабораторной практике.

Пособие содержит вопросы для самоконтроля усвоения материала и тренировочные тестовые задания.

Иллюстрированное учебное пособие предназначено для внеаудиторной подготовки студентов, обучающихся по специальностям 060101 (лечебное дело), 060103 (педиатрия), 060105 (медико-профилактическое дело), 060201 (стоматология) и 060301 (фармация).

© ГБОУ ВПО УГМУ, 2015

© Литусов Н.В.

## Содержание

Введение .....	4
Химический состав бактерий .....	4
Ферменты бактерий и их выявление .....	6
Механизмы транспорта веществ внутрь бактериальной клетки .....	13
Метаболизм бактерий .....	16
Энергетический метаболизм бактерий.....	19
Конструктивный метаболизм бактерий .....	23
Транспорт веществ из бактериальной клетки .....	24
Рост и размножение бактерий .....	29
Питательные среды .....	32
Вопросы для контроля усвоения материала .....	37
Тренировочные тестовые задания .....	37
Список учебной литературы .....	41

## Введение

Физиология микробов - это раздел микробиологии, изучающий химический состав микробных клеток, механизмы поступления питательных веществ внутрь клетки, энергетический и конструктивный метаболизм, системы секреции веществ из бактериальной клетки, рост и размножение бактерий.

Изучение физиологии микроорганизмов началось с работ французского ученого Л. Пастера и немецкого ученого Р. Коха, положивших начало физиологическому периоду развития микробиологии. Л. Пастер первым установил роль бактерий в спиртовом, молочнокислом и уксуснокислом брожении. Р. Кох предложил использовать для выращивания бактерий плотные питательные среды на основе желатина и агара, разработал метод выделения чистых культур бактерий на плотных питательных средах.

### Химический состав бактерий

Бактерии имеют сложное химическое строение. 70% общей массы бактериальной клетки составляет вода. Часть воды находится в свободном состоянии, а часть - в связанном состоянии (входит в состав компонентов клетки). Сухое вещество составляет 30% массы клетки. В составе сухого вещества на долю белков приходится 52%, углеводов – 17%, липидов – 9%, РНК – 16%, ДНК – 3%, минеральные вещества – 3% (рисунок 1).

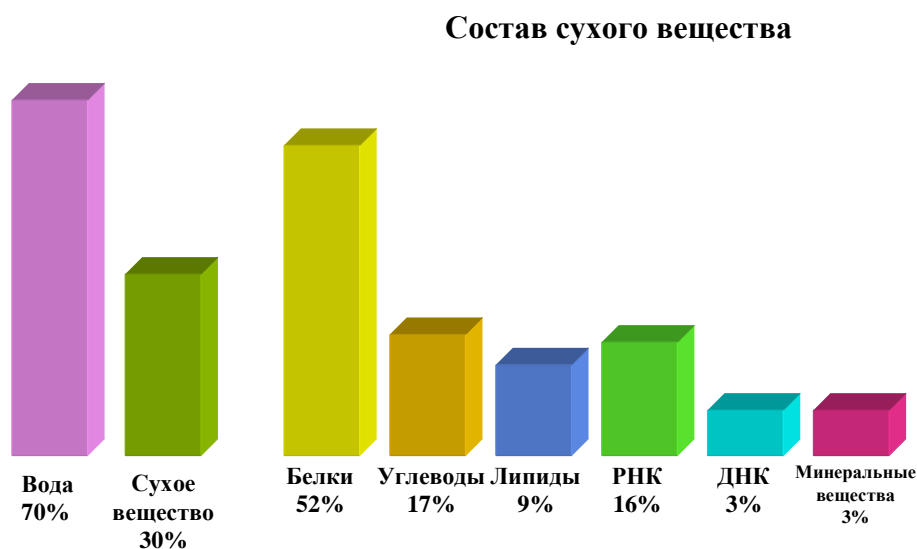


Рисунок 1 – Химический состав микробной клетки.

Из числа химических элементов в составе микроорганизмов имеются (по отношению к сухому веществу): азот – 8 - 15%, углерод – 45 - 55%, кислород – 25 - 30%, водород – 6 - 8%, минеральные вещества – 2 - 15% (рисунок 2).

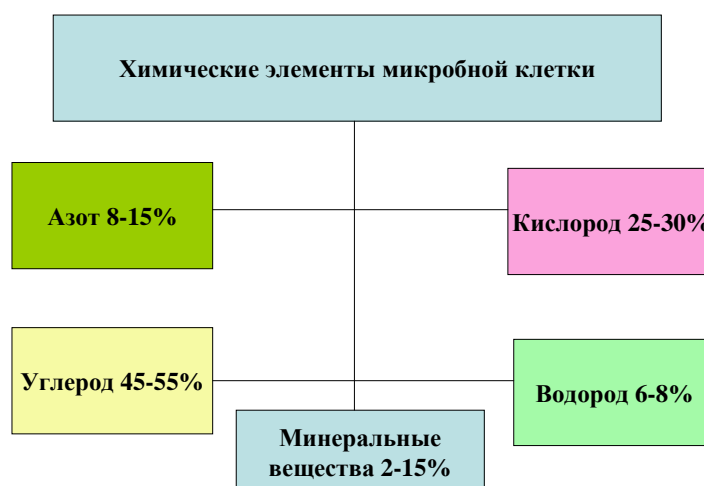


Рисунок 2 – Химические элементы микробной клетки.

Азот, углерод, кислород и водород принято называть **органогенами**, так как в основном из них состоят органические вещества.

К минеральным веществам относятся **макроэлементы** (сера, фосфор, калий, кальций, магний, железо, кремний, хлор) и **микроэлементы** (марганец, молибден, кобальт, цинк, медь, никель, ванадий, бор). Фосфор входит в состав нуклеиновых кислот, липидов, фосфолипидов. Сера содержится в составе некоторых аминокислот (цистина, цистеина). Магний обеспечивает активность ряда ферментов, например, протеазы. Железо является необходимым элементом для осуществления процессов дыхания и энергетического обмена. Химические элементы образуют в микробных клетках различные органические вещества: белки, нуклеиновые кислоты, углеводы, липиды, витамины и др.

**Белки** представлены простыми белками - **протеинами** и сложными белками – **протеидами**. Простые белки состоят из аминокислот, а сложные белки, кроме протеина, содержат еще небелковую простетическую группу. Простетическая группа может быть представлена жироподобными веществами — липоидами (липопротеиды), нуклеиновыми кислотами (нуклеопротеиды).

#### **Функции белков:**

- структурная (определяют структуру клетки);
- каталитическая (часть белков являются ферментами);
- двигательная (белок флагеллин – белок жгутиков);
- транспортная (белки - переносчики);
- защитная (белки, входящие в состав клеточной стенки);
- резервная (белки, находящиеся в составе запасных веществ).

**Углеводы** (в основном, полисахариды) выполняют энергетическую роль в бактериальной клетке. Углеводы представлены многоатомными спиртами (сорбит, маннит, дульцит); полисахаридами (гликоген, декстрин, целлюлоза), моносахаридами (глюкоза и др.).

**Липиды** - истинные жиры, **липоиды** - жироподобные вещества. Одни бактерии содержат небольшое количество липидов (3-7%), другие бактерии содержат значительное количество липидов (до 40%). Бактериальные липиды состоят из свободных жирных кислот, нейтральных жиров, восков, фосфолипидов.

Высокое содержание липидов обуславливает устойчивость некоторых бактерий (например, микобактерий туберкулеза) к спиртам, щелочам, кислотам.

**Нуклеиновые кислоты** бактерий представлены РНК и ДНК. РНК в основном содержится в рибосомах, ДНК - в нуклеоиде. ДНК является носителем наследственной информации бактерий. Нуклеоид бактерий содержит около 1 тысячи генов. Почти все они кодируют синтез ферментов. Для каждого вида бактерий характерен свой набор ферментов.

### Ферменты бактерий и их выявление

Все обменные процессы в бактериальной клетке идут с участием ферментов (энзимов). Ферменты выполняют функцию биокатализаторов. Они представляют собой простые или сложные белки. Принято различать экзоферменты и эндоферменты. **Экзоферменты** выделяются микробной клеткой во внешнюю среду. Часть экзоферментов связана с питанием бактерий, так как они расщепляют питательные вещества до такой формы, которая способна усваиваться микробной клеткой. **Эндоферменты** участвуют в разложении питательных веществ внутри клетки и в превращении их в составные части клетки (рисунок 3).



Рисунок 3 – Действие экзо- и эндоферментов бактерий.

Одни ферменты синтезируются бактериальной клеткой постоянно (**конститутивные ферменты**), другие ферменты синтезируются только при контакте с определенным субстратом (**индуцибельные ферменты**). В частности, конститутивными ферментами являются ферменты гликолиза – ферменты окисления глюкозы (гексокиназа, глюкозоизомераза, альдолаза и др.). Индуцибельными ферментами являются бета-галактозидаза (катализирует расщепление лактозы на глюкозу и галактозу) и бета-лактамаза (расщепляет бета-лактамы антибиотики).

Все ферменты подразделяются на шесть классов:

- оксидоредуктазы;
- трансферазы;
- гидролазы;

- лиазы;
- изомеразы;
- лигазы (синтетазы).

**Оксидоредуктазы** – это ферменты, которые катализируют окислительно-восстановительные реакции и встречаются во всех живых клетках. Их основная функция – обеспечение организма энергией в доступной для использования форме. Важнейшими представителями оксидоредуктаз являются дегидрогеназы, оксидазы, пероксидазы, гидроксилазы, оксигеназы, каталаза. При идентификации бактерий в основном используют методы выявления каталазы и цитохромоксидазы.

Каталаза разлагает пероксид водорода на воду и молекулярный кислород. Этот фермент выявляют по образованию пузырьков кислорода после смешивания микробной суспензии с 1% раствором перекиси водорода на стекле или после нанесения раствора перекиси водорода на культуру, выросшую на поверхности плотной питательной среды (рисунок 4).

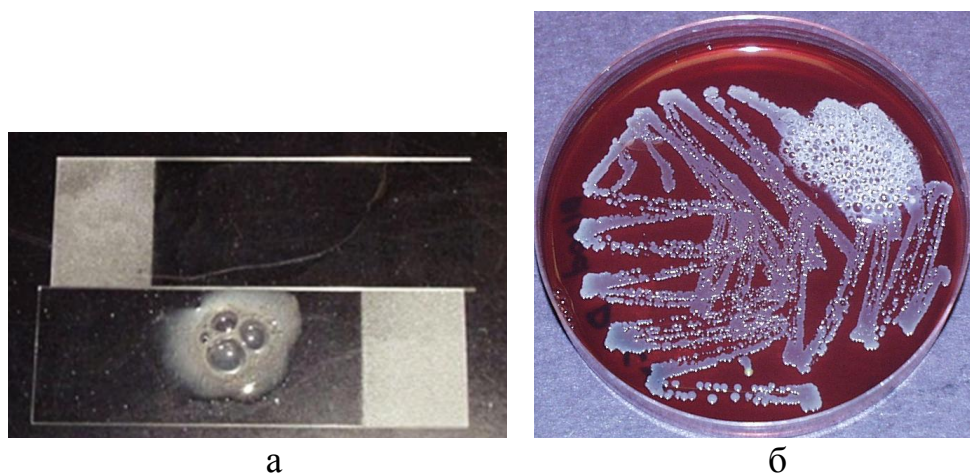


Рисунок 4 – Выявление бактериальной каталазы на предметном стекле (а) и на поверхности плотной питательной среды (б).

Цитохромоксидаза окисляет молекулы цитохрома С, восстанавливая кислород. Цитохромоксидазу обнаруживают смачиванием бумажки специальным реактивом (1% спиртовый раствор  $\alpha$ -нафтола; 1% водный раствор N-диметил- $\beta$ -фенилендиамина дигидрохлорида). Нанесение на бумажку капли суточной культуры бактерий приводит к появлению синего окрашивания. Для этих же целей выпускают также специальные слайды (рисунок 5).

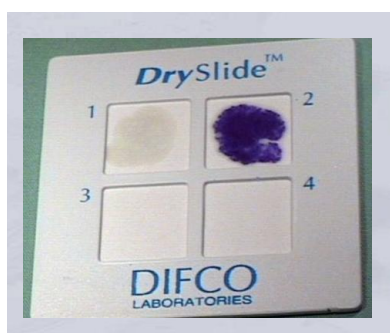


Рисунок 5 – Тест на цитохромоксидазу.

**Трансферазы** – ферменты, которые катализируют перенос отдельных радикалов ( $\text{PO}_3$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{CN}_3$ ), частей молекул или целых атомных группировок от одних соединений к другим. К трансферазам относятся ацетилтрансфераза, фосфотрансфераза, аминотрансфераза, метилтрансфераза. Эти ферменты в повседневной лабораторной практике не определяют.

**Гидролазы** – ферменты, которые катализируют реакции расщепления и синтеза белков, жиров и углеводов с участием воды. К этому классу ферментов относятся пептидогидролазы или протеазы - ферменты, расщепляющие белки; гидролазы гликозидов или гликозидазы, расщепляющие гликозиды ( $\beta$ -фруктофуранозидаза,  $\alpha$ -глюкозидаза,  $\beta$ -галактозидаза); эстеразы, катализирующие расщепление сложных эфиров (липаза, фосфатаза). При идентификации бактерий в первую очередь изучают ферменты, расщепляющие углеводы и белки. Способность бактерий расщеплять углеводы, называется сахаролитической активностью, а способность расщеплять белки – протеолитической активностью. Эти признаки выявляются по конечным продуктам расщепления субстратов после посева изучаемой культуры на специальные питательные среды. При ферментации сахаров выявляют образование кислоты (молочной, уксусной, муравьиной) или кислоты и газа (углекислого газа, водорода), а при распаде белков – образование щелочей, сероводорода, индола, аммиака.

Для выявления гликозидаз используют жидкие или полужидкие среды Гисса. **Жидкие среды Гисса** представляют собой пептонную воду, содержащую один из углеводов (лактозу, глюкозу, мальтозу, сахарозу и т. д.) и индикатор Андресе (кислый фуксин, обесцвеченный щелочью). Для улавливания образующихся газов в пробирку помещают поплавочек (микропробирку вверх дном), который при стерилизации заполняется средой. Исходный цвет среды – соломенно-желтый. При расщеплении углевода до кислоты наблюдается только изменение цвета среды на красный, а при образовании еще и газа последний скапливается в поплавке. Если углевод не расщепляется, цвет среды не изменяется (рисунок 6).



Рисунок 6 – Жидкая среда Гисса: а – исходная среда; б – разложение углевода до кислоты; в – разложение углевода до кислоты и газа.



**Полужидкие среды Гисса** содержат 0,2-0,5% МПА, 1% одного из углеводов и индикатор ВР (вводно-голубая краска и розоловая кислота). Исходный цвет среды – розово-серый. При расщеплении углевода цвет среды становится голубым, а при образовании газа отмечаются разрывы среды или пузырьки газа (рисунок 7).

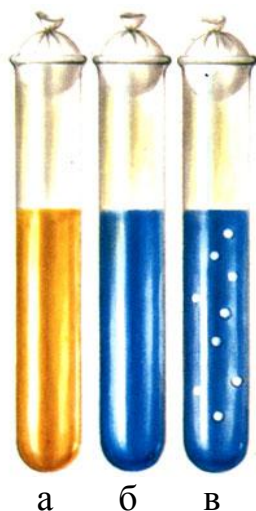


Рисунок 7 - Полужидкая среда Гисса: а – исходная среда: б – разложение углевода до кислоты: в – разложение углевода до кислоты и газа.

Каждый вид бактерий ферментирует только определенный спектр углеводов, поэтому в одних пробирках цвет среды меняется, а в других – остается исходным, в результате чего наблюдается “пестрый ряд”. Иными словами, для каждого вида бактерий характерен свой “пестрый ряд”. Это позволяет отличить один вид бактерий от другого.

**Протеазы** бактерий выявляют при посеве чистой культуры на специальные питательные среды (мясо-пептонный желатин - МПЖ, молочный агар, мясо-пептонный бульон – МПБ). Результат оценивают по разжижению желатина, разложению казеина молока вокруг колоний или по конечным продуктам распада белков.

Разные виды бактерий имеют разную форму разжижения желатина: золотистый стафилококк – в виде воронки, холерный вибрион – в виде гвоздя (рисунок 8).

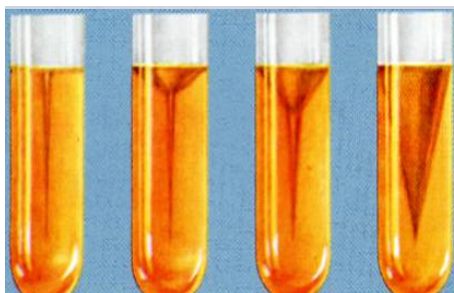


Рисунок 8 – Характер разжижения желатина.

Протеолиз казеина проявляется образованием зон просветления вокруг

колоний (рисунок 9).



Рисунок 9 – Протеолиз казеина.

Конечными продуктами распада белков могут быть индол, сероводород и аммиак. Для обнаружения этих продуктов используют индикаторные бумажки, которые помещают внутрь пробирки между стенкой пробирки и ватно-марлевой пробкой. Индикатором на **индол** (продукт разложения триптофана) является щавелевая кислота. Пропитанная щавелевой кислотой бумажка при наличии индола меняет белый цвет на розовый. В настоящее время тестирование культур на образование индола проводят при помощи реактива Ковача или реактива Эрлиха (рисунок 10).

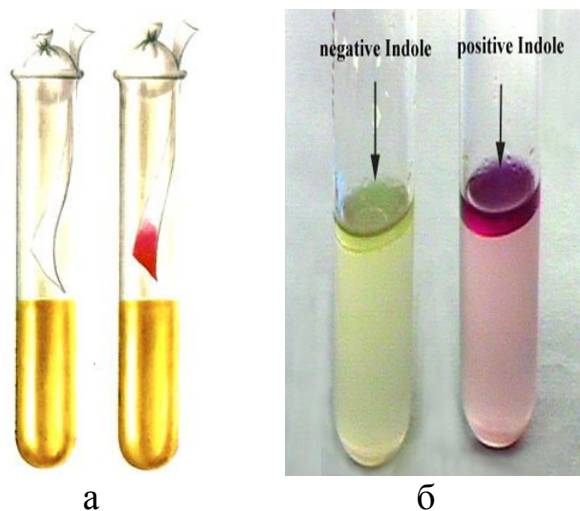


Рисунок 10 – Тест на индол с помощью индикаторных полосок (а) и при помощи реактива Ковача (б).

Индикатором на **сероводород** (продукт разложения серосодержащих аминокислот – цистина, цистеина, метионина) является ацетат свинца. При наличии сероводорода белая бумажка приобретает черный цвет за счет образования сульфида свинца (рисунок 11).

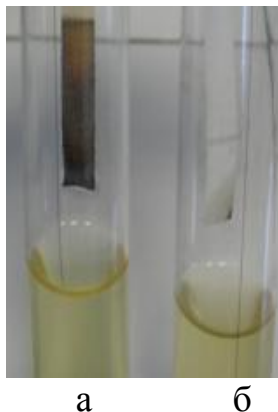


Рисунок 11 – Тест на сероводород: а – положительный тест; б – контроль.

Выявление сероводорода у представителей семейства энтеробактерий проводят на дифференциально-диагностических средах Клиглера или Олькеницкого. Положительный результат проявляется образованием преципитата черного цвета в результате восстановления сульфатов в сульфиты (рисунок 12).



Рисунок 12 – Рост энтеробактерий на средах Клиглера (а) и Олькеницкого (б). Черный цвет среды указывает на образование сероводорода.

Индикатором на **аммиак** (продукт разложения фенилаланина) является лакмусовая полоска бумаги. При наличии аммиака красная лакмусовая бумажка приобретает синий цвет.

**Лиазы** – это ферменты, которые катализируют отщепление от субстратов определенных химических групп с образованием двойных связей или присоединение отдельных групп (например, аминогрупп, альдегидных групп) по месту двойных связей без участия воды (декарбоксилазы, дезаминазы). В частности, выявление декарбоксилаз проводится на питательных средах с добавлением соответствующей аминокислоты (например, лизиндекарбоксилазу определяют на среде с лизином).

**Изомеразы** – это ферменты, производящие глубокие внутримолекулярные перестройки, то есть превращение органических соединений в их изомеры (изомеразы, трансферазы, топоизомеразы). В лабораторной практике эти ферменты не выявляют.

**Лигаза (синтетаза)** – это ферменты, которые катализируют синтез сложных органических веществ (сшивание, лигирование) из простых соединений с одновременным разрывом фосфатных связей (аспарагинсинтетаза, кокарбоксилазы).

У патогенных бактерий часть экзоферментов называется **ферментами агрессии**. Эти экзоферменты способствуют проникновению и распространению

бактерий в тканях макроорганизма, а также ослабляют его защитные силы. К ферментам агрессии относятся гиалуронидаза, коллагеназа, лецитиназа, ДНКаза, лейкоцидин, гемолизин, плазмокоагулаза, фибринолизин, нейраминидаза, протеаза и др.

В лабораторных условиях определяют такие ферменты патогенности бактерий как гемолизин, лецитиназу, ДНКазу, плазмокоагулазу и фибринолизин.

**Гемолизин** вызывает гемолиз эритроцитов. Присутствие гемолизина можно установить на кровяном агаре по образованию зоны просветления (зоны гемолиза) вокруг колоний (рисунок 13).

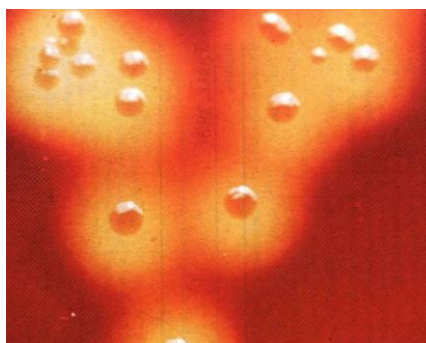


Рисунок 13 – Гемолиз эритроцитов на кровяном агаре.

**Лецитиназа** расщепляет лецитины на фосфохолины и нерастворимые в воде диглицериды. На желточном агаре действие этого фермента проявляется в виде опалесцирующей зоны (радужного венчика) вокруг колоний (рисунок 14).



Рисунок 14 – Выявление лецитиназы на желточном агаре.

**ДНКаза** катализирует гидролитическое расщепление полинуклеотидной цепи ДНК с образованием отдельных нуклеотидов и олигонуклеотидов. Для выявления ДНК-азы используют агар, содержащий водный раствор ДНК и раствор кальция хлорида. После выращивания культуры на чашки наносят раствор соляной кислоты. Положительная реакция проявляется прозрачной зоной деполимеризованной ДНК вокруг колоний на мутном фоне, образованном в результате взаимодействия ДНК с соляной кислотой (рисунок 15).

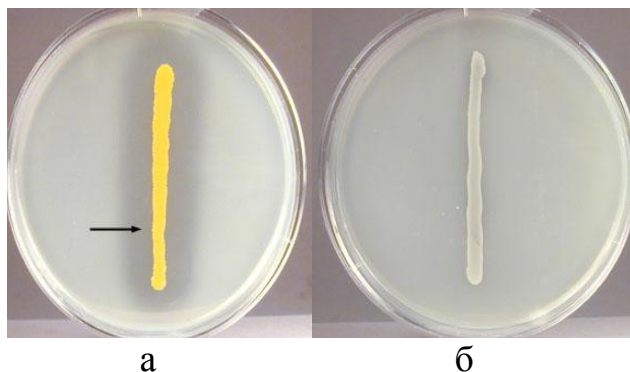


Рисунок 15 – Выявление ДНКазы стафилококков: а – положительная реакция, б – отрицательная реакция..

**Плазмокоагулаза** вызывает коагуляцию плазмы крови (образование сгустка). **Фибринолизин** лизирует фибриновые сгустки. Присутствие плазмокоагулазы и фибринолизина определяется с помощью одного теста. В пробирку с плазмой вносят исследуемую культуру. При наличии плазмокоагулазы через 3-4 часа при комнатной температуре образуется сгусток. При дальнейшем культивировании при температуре  $36^{\circ}\text{C}$  в случае синтеза фибринолизина сгусток разжижается (рисунок 16).

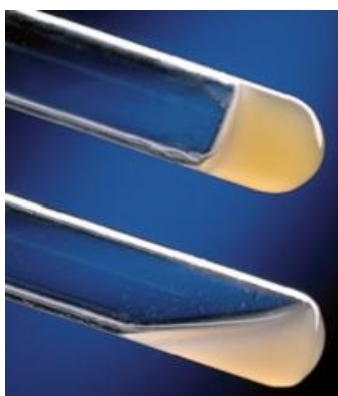


Рисунок 16 – Коагуляция плазмы крови (верхняя пробирка) и разжижение сгустка (нижняя пробирка).

Такие ферменты патогенности как нейраминидаза, гиалуронидаза, коллагеназа в лабораторных условиях в повседневной практике не определяются.

### **Механизмы транспорта веществ внутрь бактериальной клетки**

Поступление питательных веществ внутрь бактериальной клетки происходит разными способами. Различают следующие типы переноса питательных веществ из внешней среды в бактериальную клетку:

1. Пассивный перенос (по градиенту концентрации без затрат энергии):
  - простая диффузия;
  - облегченная диффузия.
2. Активный перенос (против градиента концентрации с затратой энергии с помощью пермеаз):



- активный транспорт;
- транслокация радикалов.

**Простая диффузия** (осмос) – это поступление питательных веществ из окружающей среды через клеточную стенку и цитоплазматическую мембрану в результате разницы концентраций питательных веществ в теле бактериальной клетки и в питательной среде (по градиенту концентрации). При этом концентрация вещества вне клетки выше, чем внутри клетки. Переносимое вещество не взаимодействует с компонентами клеточной мембраны. Процесс осуществляется без затрат энергии. Посредством пассивной диффузии в клетку поступают газы, вода и некоторые ионы, например, ионы натрия (рисунок 17).

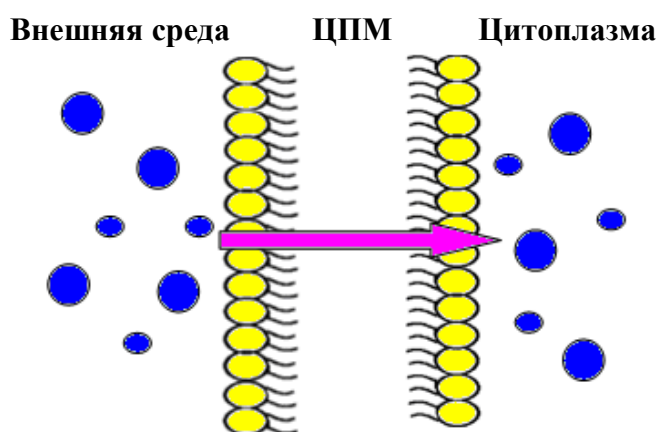


Рисунок 17 – Схема простой диффузии.

**Облегченная диффузия** – это транспорт веществ через клеточную мембрану с помощью белка-переносчика (паромщика) - **транслоказы**. При этом концентрация вещества в среде превышает его концентрацию в клетке, то есть перенос осуществляется по градиенту концентрации. Процесс идет без затрат энергии. Для микробов примером облегченной диффузии является перенос глицерина (рисунок 18).

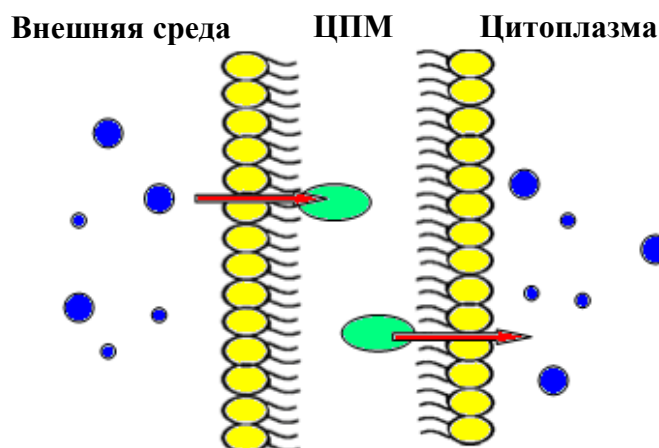


Рисунок 18 – Схема облегченной диффузии.

**Активный транспорт** осуществляется также с помощью белков-переносчиков – **пермеаз** (лат. *permeo* – прохожу, проникаю), но с затратой энергии. Энергия необходима для модификации белка-переносчика на внутренней стороне мембраны. Активный транспорт направлен против градиента концентрации и позволяет создать значительную концентрацию вещества внутри клетки при его небольшом количестве в питательной среде. Пермеаза на внешней стороне цитоплазматической мембраны связывается специфически с молекулой субстрата и с помощью АТФ транспортирует ее к внутренней стороне мембраны. На внутренней поверхности мембраны пермеаза высвобождает субстрат в цитоплазму. С помощью активного транспорта в бактериальную клетку поступает основное количество питательных веществ в виде небольших молекул - аминокислоты, некоторые сахара, органические кислоты (рисунок 19).

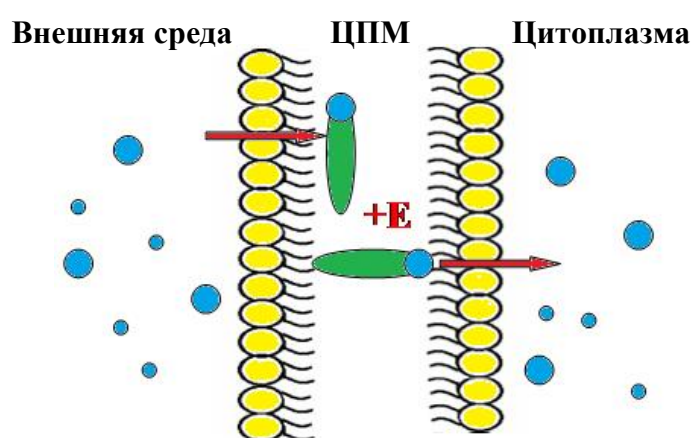


Рисунок 19 – Схема активного транспорта.

**Транслокация радикалов** также осуществляется с помощью пермеаз и с затратой энергии. При этом в процессе переноса происходит химическая модификация переносимого вещества. Этим способом переносятся пурины, пиримидины, некоторые сахара (рисунок 20).

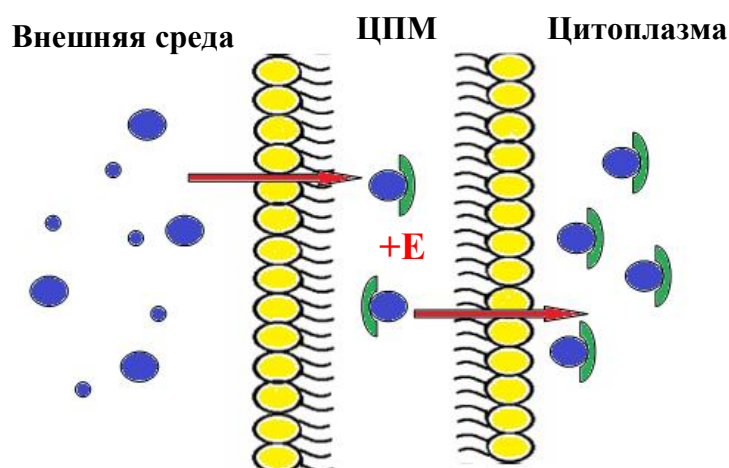


Рисунок 20 – Схема транслокации радикалов.

Таким образом, разные питательные вещества транспортируются в бактериальную клетку либо по градиенту концентрации, либо против градиента концентрации, либо с затратой энергии, либо без затрат энергии. Поступив в клетку, питательные вещества вступают в биохимические реакции, в результате которых образуются как источники энергии, так и структурные компоненты клетки.

## Метаболизм бактерий

В микробной клетке постоянно протекают реакции, обеспечивающие ее жизнедеятельность. При этом из мономеров формируются клеточные полимерные структуры. Мономеры поступают в клетку в готовом виде из внешней среды или синтезируются самой клеткой. Эти реакции катализируются ферментами. Обмен веществ бактериальной клетки с окружающей средой и превращение одних веществ в другие внутри микробной клетки под влиянием ферментов называется **метаболизмом**. Следовательно, метаболизм - это направленное преобразование веществ внутри клетки. При этом в клетке происходят последовательные ферментативные реакции разрушения и синтеза биомолекул. Промежуточные или конечные вещества, образующиеся в результате этих реакций, называются **метаболитами**. Метаболизм бактерий включает питание, получение энергии, рост и размножение бактерий, а также их взаимодействие с окружающей средой.

В обмене веществ выделяют два процесса, протекающих одновременно: катаболизм и анаболизм. Взаимосвязь процессов катаболизма и анаболизма в микробной клетке представлена на рисунке 21.

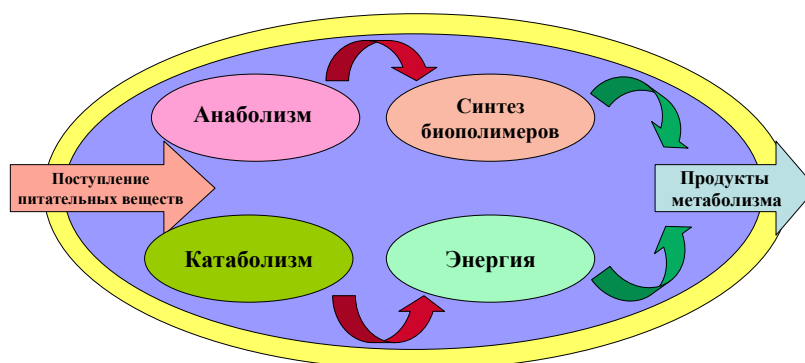


Рисунок 21 – Взаимосвязь процессов катаболизма и анаболизма.

**Катаболизм** – это энергетический метаболизм, процесс расщепления, разложения, распада питательных веществ на составляющие фрагменты. Этот процесс характеризуется выделением свободной энергии и расходом огромной массы питательного субстрата. Энергия в бактериальной клетке накапливается в форме молекул АТФ. Примером катаболизма является превращение глюкозы до углекислого газа и воды.

**Анаболизм** – это конструктивный (пластический) метаболизм, характеризующийся синтезом макромолекул и образованием структурных элементов бактериальной клетки. Анаболизм протекает с поглощением энергии при



расходе небольшого объема питательных веществ. Синтез белков происходит из аминокислот, синтез нуклеиновых кислот – из пуриновых и пиримидиновых оснований, синтез липидов – из глицерина и жирных кислот, синтез полисахаридов – из моносахаров.

Таким образом, попавшие внутрь клетки питательные вещества в результате серии последовательных биохимических реакций под действием эндоферментов превращаются в низкомолекулярные соединения (катаболизм) или в сложные компоненты клеток (анаболизм). Схема обмена веществ у бактерий представлена на рисунке 22.

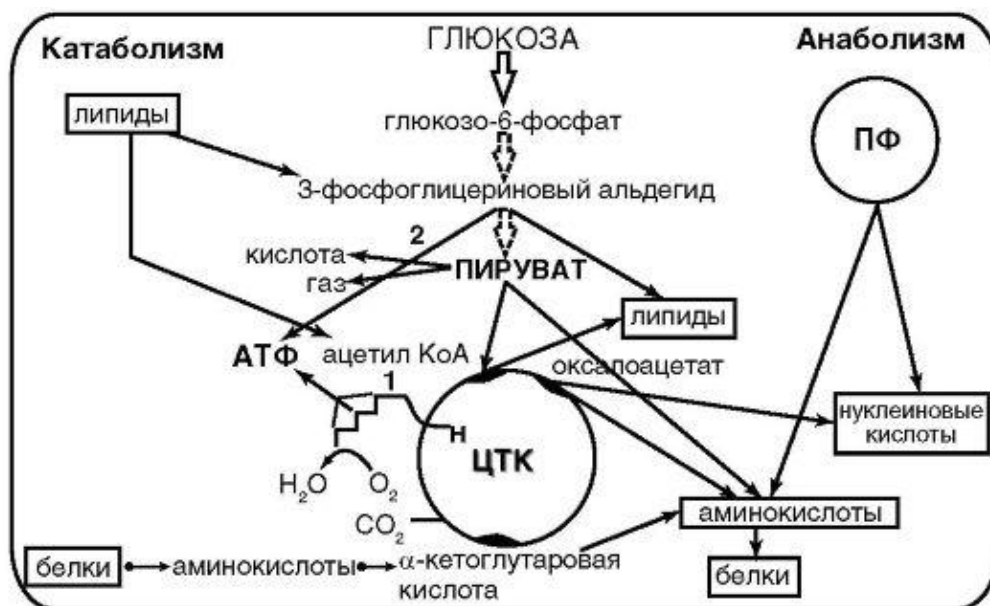


Рисунок 22 – Схема обмена веществ у бактерий.

**По типу питания все живые организмы подразделяются на две группы:**

- **организмы, имеющие голозойный тип питания** (характерен для животных, имеющих органы для принятия пищи, ее переваривания и выведения);
- **организмы, имеющие голофитный тип питания** (характерен для микробов, не имеющих органов для принятия пищи). Питательные вещества у них проникают через всю поверхность тела. При помощи гидролитических экзоферментов они осуществляют внешнее переваривание, то есть расщепляют белки, жиры и углеводы до простых молекул, которые поступают внутрь клетки и подвергаются в дальнейшем при необходимости воздействию эндоферментов. Есть микроорганизмы, способные утилизировать некоторые элементы в газообразном состоянии или из неорганических соединений.

Для разных бактерий присущи свои способы усвоения химических соединений и свои источники энергии. Самым необходимым химическим элементом для бактерий является углерод, поскольку он служит каркасом биомолекул (белков, углеводов, жирных кислот). **По источнику углерода** бактерии подразделяются на 2 группы:

- **аутоотрофы** (греч. *autos* – сам, *trophe* - питание) - микроорганизмы, усваивающие углерод из неорганических соединений (углекислоты воздуха или карбонатов);

- **гетеротрофы** (греч. *heteros* – другой, *trophe* – питание) - микроорганизмы, использующие углерод органических соединений.

Автотрофы, использующие для синтеза органических веществ энергию видимого света и инфракрасных лучей, называются **фототрофами** (фотосинтезирующими бактериями). Автотрофы, использующие для биосинтетических целей энергию, заключенную в химических связях неорганических веществ, называются **хемотрофами** (хемосинтезирующими бактериями).

Гетеротрофы в зависимости от субстрата подразделяются на 2 подгруппы:

- **сапрофиты** (греч. *sapros* – гнилой, *phyton* – растение) – микроорганизмы, живущие за счет использования углерода мертвых субстратов;

- **паразиты** (греч. *parasites* – нахлебник) – микроорганизмы, живущие на поверхности или внутри организма хозяина и питающиеся за его счет.

Таким образом по типу питания бактерии можно подразделить на группы (рисунок 23).

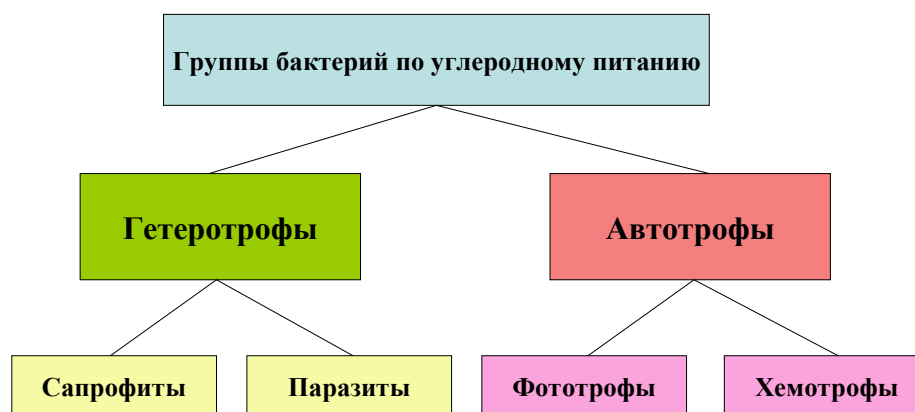


Рисунок 23 – Распределение бактерий по источнику углерода.

Гетеротрофные бактерии, способные расти на питательных средах, в состав которых входит одно органическое вещество в качестве источника углерода, а остальные химические элементы содержатся в составе неорганических соединений, называются **прототрофами**.

Бактерии, для роста и размножения которых требуются дополнительные органические вещества, называются **ауксотрофами**. Такие дополнительные органические вещества называются факторами роста. К **факторам роста** относятся аминокислоты, витамины, пурины, пиримидины, пентозы, гексозы, липиды.

Микробы, способные размножаться только в живых клетках организма (например, вирусы, риккетсии), называются **абсолютными внутриклеточными паразитами**. Микроорганизмы, способные длительно переживать и размножаться в клетках хозяина и на искусственных питательных средах (например пастереллы, листерии, иерсинии и др.), называются **факультативными внутриклеточными паразитами**. Некоторые микробы (например хламидии) обладают “энергетическим” паразитизмом. Они имеют собственный метаболизм, но зависят от энергетического обмена клеток хозяина.

В качестве источника углерода бактерии чаще всего используют углеводы,

спирты, различные органические кислоты. Наиболее полноценными источниками углерода для питания микробов являются сахара (особенно гексозы) и многоатомные спирты (глицерин, маннит, сорбит и др.). Эти соединения включают в искусственные питательные среды для выращивания микроорганизмов.

**По способу усвоения азотистых веществ** микробы подразделяются на 4 группы:

- **протеолитические** - микробы, способные расщеплять нативные белки, пептиды и аминокислоты;
- **дезаминирующие** - микробы, способные отщеплять аминогруппы только у свободных аминокислот;
- **нитритно-нитратные** - микробы, усваивающие окисленные формы азота;
- **азотфиксирующие** микробы, обладающие свойством питаться атмосферным азотом.

Основным источником азота у микроорганизмов - автотрофов являются неорганические соединения азота, а у гетеротрофных микроорганизмов - аминокислоты, которые они получают из белков животного организма или из питательных сред.

Необходимые для жизни минеральные вещества микроорганизмы получают из естественной питательной среды. Серу бактерии получают из сульфатов или из некоторых аминокислот (цистин, цистеин). Фосфор входит в состав фосфорнокислых солей. Калий, магний и железо микроорганизмы также получают из различных солей.

Для восполнения биомассы бактериальной клетке требуется источник энергии. Бактериальная клетка запасает энергию в форме молекул АТФ. **По источнику энергии** микроорганизмы подразделяются на следующие группы:

- **фототрофы** – источником энергии является свет;
- **хемотрофы** – получают энергию за счет окислительно-восстановительных реакций. Среди хемотрофов выделяют литотрофы и органотрофы. **Литотрофы** в качестве доноров электронов используют неорганические вещества, а **органотрофы** в качестве доноров электронов используют органические соединения.

**По источникам углерода и энергии** выделяют следующие группы микроорганизмов:

- **фотоавтотрофы** – источником энергии является – свет, а источником углерода – углекислый газ. К этой группе относятся высшие растения, водоросли, многие фотосинтезирующие бактерии;
- **фотогетеротрофы** – источник энергии - свет, источник углерода – органическое вещество (пурпурные и зеленые бактерии);
- **хемоавтотрофы** – источник энергии – химическое вещество, источник углерода – углекислый газ (бактерии);
- **хемогетеротрофы** – источник энергии – химическое вещество, источник углерода – органическое вещество (простейшие, грибы, бактерии).

### Энергетический метаболизм бактерий

Для обеспечения жизнедеятельности бактериальной клетке необходима энергия. Энергия в бактериальной клетке накапливается в форме молекул АТФ.

Синтез АТФ у бактерий может происходить в результате следующих процессов:

- дыхание (окислительный метаболизм);
- брожение (ферментативный или бродильный метаболизм);
- смешанный метаболизм.

Схемы окислительного и бродильного механизмов представлены на рисунке

24.

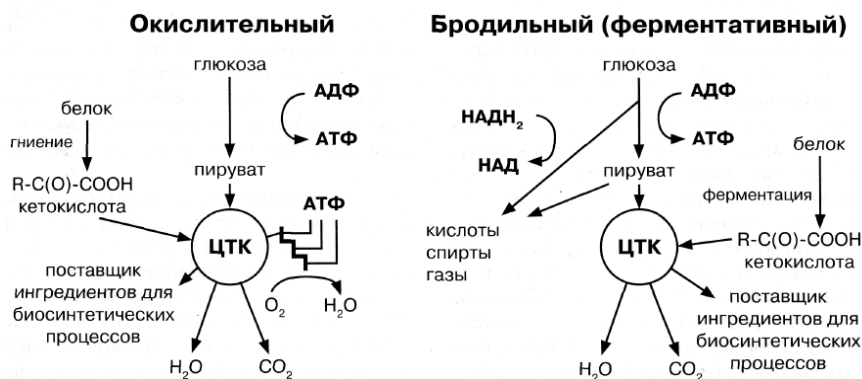


Рисунок 24 – Типы метаболизма у бактерий в зависимости от способа получения энергии.

Тип метаболизма обусловлен реакциями образования АТФ, конечными продуктами этих реакций и условиями культивирования микроорганизмов. Процессы энергетического обмена у бактерий связаны в основном с расщеплением глюкозы. Начальной стадией окисления глюкозы является гликолиз, характерный как для аэробных, так и для анаэробных бактерий.

У бактерий выделяют следующие пути окисления глюкозы (рисунок 25):

- **ФДФ-путь (фруктозо-1,6-дифосфат)** - гликолиз с образованием из глюкозы пирувата, пиридиннуклеотидов и АТФ;
- **КДФГ-путь (2-кето-3-дезоксиглюконовая кислота)** – образование из глюкозы пирувата, НАДФН и АТФ;
- **ПФ-путь (пентозо-фосфат)** – образование из глюкозы пентоз, пирувата, пиридиннуклеотидов и АТФ.

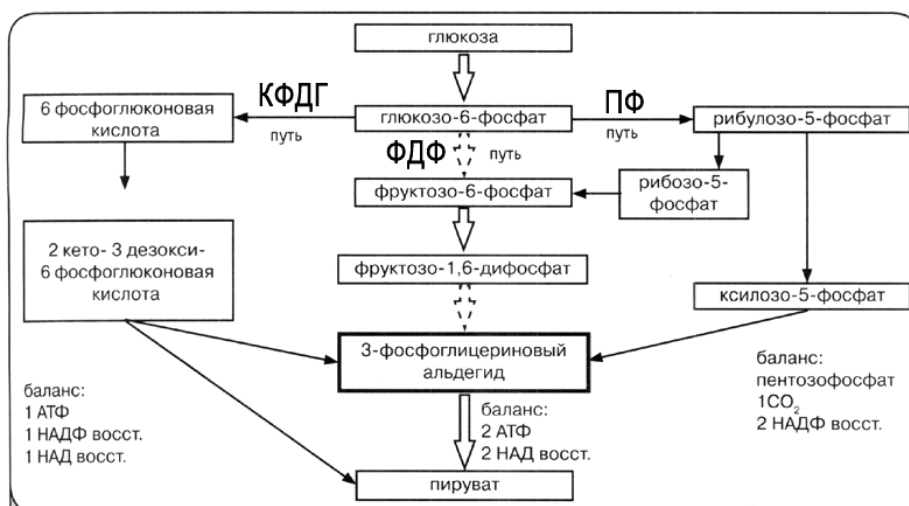


Рисунок 25 – Пути расщепления глюкозы у бактерий.

**Дыхание** – это метаболический процесс получения энергии в реакциях окисления – восстановления путем последовательного переноса электронов от одного соединения к другому до конечного акцептора. Таким образом, образование АТФ при дыхании происходит в результате транспорта электронов. Процесс переноса электронов происходит в цитоплазматической мембране или во внутриклеточных мембранных структурах. Этот процесс протекает с участием сложной мультиферментной системы, которая называется **дыхательной цепью**. Доноры электронов при этом окисляются, отдавая электроны, а акцепторы – восстанавливаются, принимая электроны. Донорами электронов в процессах дыхания могут быть как органические соединения (у органотрофов), так и неорганические вещества (у литотрофов). Конечным акцептором электронов при дыхании служат либо молекулярный кислород (аэробное дыхание), либо неорганические соединения (анаэробное дыхание). Выделяющаяся при этом энергия запасается в молекулах АТФ. Органические соединения обычно полностью окисляются до углекислого газа. Таким образом, дыхание бактерий – это цепь биохимических окислительно-восстановительных реакций, в ходе которых образуется АТФ.

Если конечным акцептором электронов при дыхании служит молекулярный кислород, то такой тип дыхания называется **аэробным**. При аэробном типе дыхания реакции расщепления сложных соединений происходят в присутствии кислорода. Размножение аэробных бактерий также происходит в присутствии кислорода.

Если акцептором электронов при дыхании служат неорганические соединения (сульфаты, нитраты, карбонаты), то такой тип дыхания называется **анаэробным**. При анаэробном типе дыхания реакции расщепления сложных соединений происходят в бескислородных условиях. Размножение аэробных бактерий также протекает при отсутствии кислорода.

**По типу дыхания** бактерии подразделяются на несколько групп.

**Облигатные (строгие) аэробы** растут и размножаются только при свободном доступе кислорода (например, микобактерии туберкулеза); они требуют для своего развития присутствия в среде культивирования не менее 20% кислорода. Кислород для облигатных аэробов является конечным акцептором электронов.

**Микроаэрофильные бактерии (микроаэрофилы)** развиваются при низкой (до 1%) концентрации кислорода в окружающей атмосфере (например, лептоспиры, бруцеллы).

**Факультативные анаэробы** развиваются как при доступе кислорода воздуха, так и при его отсутствии (энтеробактерии). Они обладают смешанным типом метаболизма: в присутствии кислорода энергия у них запасается в результате дыхания, а при отсутствии кислорода процесс получения энергии переключается на брожение.

**Облигатные анаэробы** растут и размножаются только в бескислородных условиях (возбудитель ботулизма). Тип метаболизма у них бродильный.

**Аэротолерантные микроорганизмы** не используют кислород для получения энергии, но могут развиваться в его атмосфере (например, молочнокислые бактерии).

Различное отношении микроорганизмов к кислороду связано с наличием у них различных ферментных систем, в частности, супероксиддисмутазы, каталазы и

пероксидазы, которые участвуют в нейтрализации токсичных перекисных соединений.

**Брожение** – это процесс получения энергии, при котором донорами и акцепторами электронов служат органические соединения (углеводы, аминокислоты, пуриновые и пиримидиновые основания и др.). При брожении конечный акцептор водорода образуется за счет самого субстрата. Например, при брожении глюкозы ее молекула, состоящая из 6 атомов углерода, вначале фосфорилируется, а затем расщепляется на две молекулы по 3 атома углерода. Одна из этих молекул после отщепления фосфора в конечном счете превращается в молекулу пировиноградной кислоты. Восстановление пировиноградной кислоты сопровождается образованием молекулы молочной кислоты.

Продуктами брожения являются органические кислоты, спирты, газы. Эти восстановленные конечные органические соединения выделяются в питательную среду и накапливаются в ней. В зависимости от природы конечных продуктов различают спиртовое, молочнокислое, муравьинокислое, маслянокислое брожение. Получение энергии путем брожения наблюдается у облигатных и факультативных анаэробов в бескислородной среде.

**Спиртовое брожение** характерно в основном для дрожжей и некоторых видов бактерий. Конечными продуктами спиртового брожения являются этиловый спирт и углекислый газ. Из одной молекулы глюкозы получается две молекулы этанола и две молекулы углекислого газа. Этот вид брожения используется в виноделии, хлебопекарной промышленности.

**Молочнокислое брожение** наблюдается у лактобацилл, бифидобактерий, стрептококков. Конечными продуктами молочнокислого брожения являются молочная кислота, уксусная кислота, этиловый спирт. Этот вид брожения используется при получении молочнокислых продуктов питания.

**Муравьинокислое брожение** характерно для энтеробактерий и вибрионов. Конечными продуктами этого вида брожения являются муравьиная, янтарная, молочная кислота, ацетоин.

**Маслянокислое брожение** характерно для строгих анаэробов (в частности, клостридий). При этом продуктами сбраживания углеводов являются масляная, уксусная, капроновая и другие органические кислоты, бутанол, ацетон, изопропанол и другие соединения.

Таким образом, образование АТФ у аэробных и анаэробных бактерий протекает разными путями (рисунок 26).



Рисунок 26 – Образование АТФ у аэробов и анаэробов.

Образующаяся в клетке энергия в последующем расходуется в процессе роста и размножения микроорганизмов.

### Конструктивный метаболизм бактерий

Основные компоненты клетки синтезируются из аминокислот, фосфатов, пуриновых и пиримидиновых оснований, органических кислот. Поставщиками этих веществ являются в том числе и промежуточные продукты энергетического метаболизма.

Выше было сказано, что среди бактерий выделяют **прототрофы**, которые способны синтезировать все компоненты клетки из одного источника углерода и энергии. В случае, когда бактерии теряют способность синтезировать какой-либо фермент, участвующий в биосинтетических реакциях, то для их роста и размножения требуется недостающее вещество, которое называется **фактором роста**. Такие бактерии называются **ауксотрофами**. Факторами роста могут быть аминокислоты, пуриновые и пиримидиновые основания, витамины.

**Биосинтез белков.** В процессе катаболизма бактерии разлагают белки под действием протеаз с образованием пептидов. В последующем под действием пептидаз пептиды разрушаются до аминокислот. В результате распада аминокислот клетка получает ионы аммония, которые требуются для синтеза собственных аминокислот. Большинство бактерий обладает способностью синтезировать все 20 аминокислот, из которых состоят белки. Белки в бактериальной клетке выполняют ферментативную функцию, а также являются составной частью структурных компонентов клетки (ЦПМ, ее производных, клеточной стенки, жгутиков, капсулы, спор).

Углеродные скелеты аминокислот образуются из промежуточных продуктов обмена. Исходным материалом служат промежуточные продукты фруктозодифосфатного (ФДФ) и пентозофосфатного (ПФ) путей, цикл трикарбоновых кислот: пируват, кетоглутаровая кислота, оксалоацетат, фумарат, эритрозо-4-фосфат, рибозо-4-фосфат. Аминогруппы в состав аминокислот вводятся в

результате непосредственного аминирования или переаминирования. Перевод неорганического азота в органические соединения происходит всегда через аммиак. Нитраты, нитриты и молекулярный азот предварительно восстанавливаются в аммиак и только лишь после этого включаются в состав органических соединений.

В результате прямого аминирования образуются лишь L-аланин, L-аспартат, L-глутамат и L-глутамин. Все остальные аминокислоты получают свою аминогруппу в результате переаминирования, с одной из “первичных” аминокислот. В большинстве случаев аминогруппа вводится на последнем этапе синтеза путем переаминирования.

**Биосинтез нуклеотидов.** Пуриновые и пиримидиновые нуклеотиды – это те строительные блоки, из которых синтезируются нуклеиновые кислоты. Кроме того, пуриновые и пиримидиновые нуклеотиды входят в состав многих коферментов и служат для активации и переноса аминокислот, сахаров, липидов в реакциях полимеризации.

Исходным соединением для образования пентозной части нуклеотидов служит рибозо-5-фосфат, образующийся в ПФ-пути. Углеродный скелет пиримидинов происходит из аспартата, который образуется в цикле трикарбоновых кислот. Атомы азота и аминогруппы пуринов и аминосодержащих пиримидинов происходят из аспартата и глутамина.

**Биосинтез липидов.** Жиры или липиды являются важными компонентами ЦПМ и клеточной стенки грамотрицательных бактерий, а также служат запасными веществами. В бактериальных жирах преобладают длинноцепочечные (C14- - C18) насыщенные жирные кислоты и ненасыщенные жирные кислоты, содержащие одну двойную связь. Сложные липиды представлены фосфатидилинозитом, фосфатидилглицерином и фосфатидилэтаноламином.

Ключевым промежуточным продуктом для биосинтеза жирных кислот является ацетил-коэнзим А. Ключевыми промежуточными продуктами для синтеза фосфолипидов является продукт ФДФ-пути: диоксиацетилфосфат, восстанавливающийся в глицеро-3-фосфат, который соединяется с остатками жирных кислот.

**Биосинтез углеводов.** Углеводы представлены в бактериальной клетке в виде моно-, ди- и полисахаридов, а также комплексных соединений. Полисахариды входят в состав некоторых капсул, крахмал и гликоген являются запасными питательными веществами.

Синтез глюкозы происходит из пирувата, за счет обратных реакций, путей распада глюкозы. Для обхода реакций, идущих только в одном направлении, имеются обходные пути, например, глиоксилатный цикл.

### **Транспорт веществ из бактериальной клетки**

Для обеспечения жизнедеятельности бактерии должны не только поглощать из внешней среды питательные вещества, но и выделять в окружающую среду гидролитические ферменты, токсины и другие соединения (метаболиты).

У грамположительных микробов белки секретируются непосредственно во внешнюю среду. У грамотрицательных бактерий секретируемые соединения



должны транспортироваться через две мембраны клеточной оболочки. Наличие наружной мембраны привело к тому, что у грамотрицательных бактерий в процессе эволюции сформировалось несколько систем секреции, различающихся по структуре и функциям. В настоящее время у бактерий выявлено 7 систем секреции.

Белки, секретируемые по I пути (**система секреции I типа, T1SS**), пересекают внутреннюю цитоплазматическую и наружную мембраны в один этап в результате образования во внутренней мембране, периплазматическом пространстве и наружной мембране одной поры (канала). Эта система секреции включает 3 компонента: АТФ-связывающую кассету (ABC-компонент, ATP-binding cassette), белки, соединяющие мембраны (MFP, membrane fusion protein) и белки наружной мембраны (OMP, outer membrane protein). Секреция в этом случае протекает без участия *sec*-белков (рисунок 27).

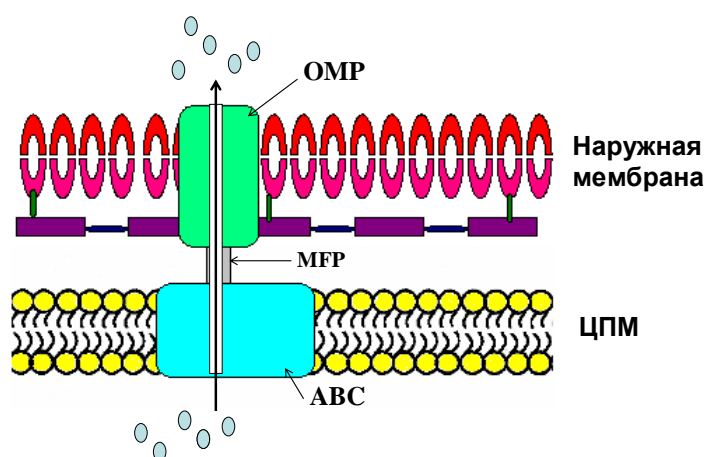


Рисунок 27 – Бактериальная система секреции I типа.

Этим путем секретируются пороформирующие токсины: гемолизины, металлопротеазы, некоторые гидролитические ферменты, внеклеточная аденилатциклаза *B. pertussis*.

**Система секреции II типа (T2SS)** обеспечивает секрецию гидролитических ферментов, некоторых токсинов, протеинов, участвующих в формировании поверхностных структур бактериальной клетки (в частности, пилей). Эта система секреции широко представлена среди грамотрицательных бактерий, в связи с чем ее называют общим секреторным путем (GSP – general secretory pathway). Белки, секретируемые по II пути, проходят через внутреннюю и наружную мембраны отдельными этапами при участии *sec*-белков. После транслокации через внутреннюю мембрану секретируемые белки задерживаются в периплазматическом пространстве, где изменяют свою конформацию. В результате таких изменений секретируемый белок приобретает окончательную структуру и транспортируется через наружную мембрану (рисунок 28).

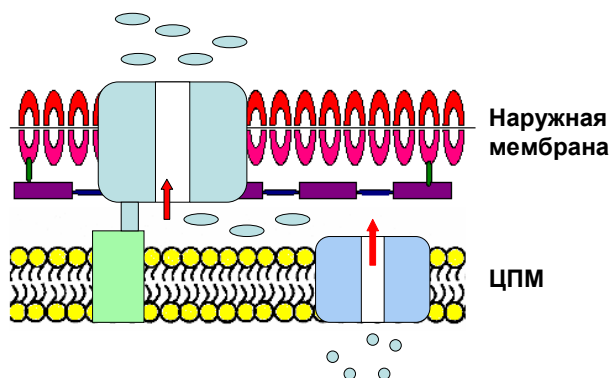


Рисунок 28 - Бактериальная система секреции II типа.

По II типу из бактериальных клеток выделяется холерный токсин, фосфолипаза С, эластаза, экзотоксин А и другие факторы патогенности *P. aeruginosa*.

**Система секреции III типа (Т3SS)** грамотрицательных бактерий в основном предназначена для транспорта из клетки компонентов жгутиков. Этот путь используется также для направленной доставки в клетку хозяина бактериальных белков - эффекторов. В результате действия этих белков нарушаются функции клетки хозяина. Система секреции III типа представляет собой шприцеподобную структуру (инъектисому), состоящую из нескольких белков и способную инъецировать эффекторные белковые молекулы непосредственно в цитозоль клетки хозяина (рисунок 29).

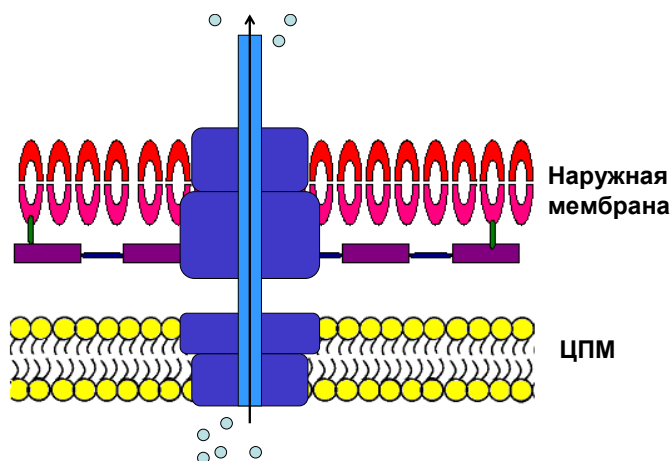


Рисунок 29 - Бактериальная система секреции III типа.

Эффекторные белки вызывают реорганизацию цитоскелета клетки хозяина, в результате чего бактерии проникают в клетку. Система секреции III типа обнаружена у *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, *P. aeruginosa*, *Chlamydia*, некоторых энтеропатогенных *E. coli*, других бактерий. Т3SS вносит существенный вклад в развитие патогенеза заболевания. Строение системы секреции III типа сальмонелл, полученное с помощью электронного микроскопа, представлено на рисунке 30.

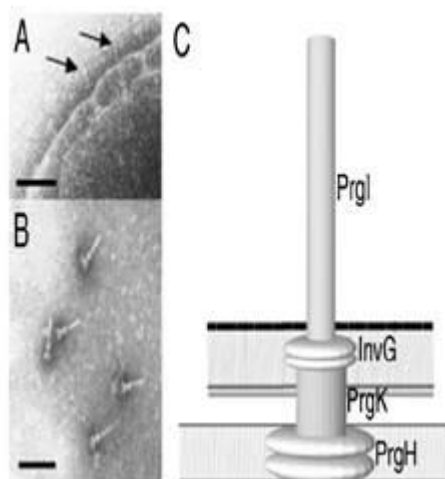


Рисунок 30 - Строение системы секреции III типа. А – электронная микрофотография зоны контакта бактериальной клетки и клетки хозяина; В – инъектисомы в свободном состоянии; С – схема строения инъектисомы сальмонелл (обозначены белки, формирующие аппарат секреции).

Белки, секретируемые по системе III типа, пересекают внутреннюю цитоплазматическую и наружные мембраны в один этап без участия *sec*-белков.

**Система секреции IV типа (T4SS)** Белки, секретируемые по IV пути, проходят через внутреннюю и наружную мембрану отдельными этапами при участии *sec*-белков (рисунок 31).

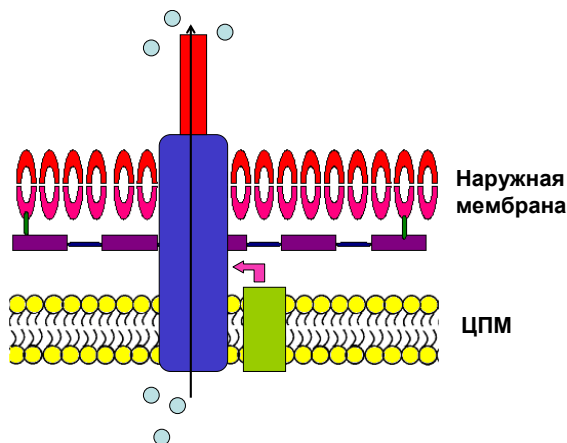


Рисунок 31 - Бактериальная система секреции IV типа.

Система секреции IV типа встречается у *Helicobacter pylori*, легионелл, бруцелл и других патогенов. В частности, с помощью этой системы бруцеллы после фагоцитоза вводят через стенку фагосомы в цитоплазму эукариотической клетки эффекторные белки, препятствующие слиянию фагосомы с лизосомой.

**Система секреции V типа (T5SS)** отличается тем, что в периплазматическом пространстве из части секретируемого полипептида формируется цилиндрическая структура, выполняющая роль поры, через которую белок выходит наружу. По этому пути секретируются IgA-протеаза у *N. gonorrhoeae*, белок пертактин у *B. pertussis*, адгезины многих патогенов (рисунок 32).

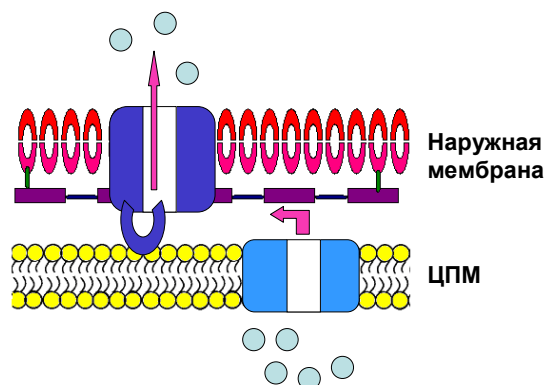


Рисунок 32 - Бактериальная система секреции V типа.

Система секреции V типа называется также системой автотранспортеров, так как в ней С-концевая последовательность белка отвечает за экспорт N-терминального домена через наружную мембрану. С помощью этой системы секреции транспортируются белки большой молекулярной массы, состоящие не менее чем из 3000 аминокислотных остатков.

**Система секреции VI типа (Т6SS)** обеспечивает доставку секретируемых белков непосредственно в цитоплазму клеток хозяина. Эта система секреции встречается у *Vibrio cholerae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Francisella tularensis* и других патогенов. Т6SS представляет собой полую структуру, состоящую из колец. В процессе сборки она постепенно удлиняется, проходит через наружную мембрану, растет до соприкосновения с мембраной эукариотической клетки, прокалывает ее и осуществляет инъекцию эффекторных молекул (рисунок 33).

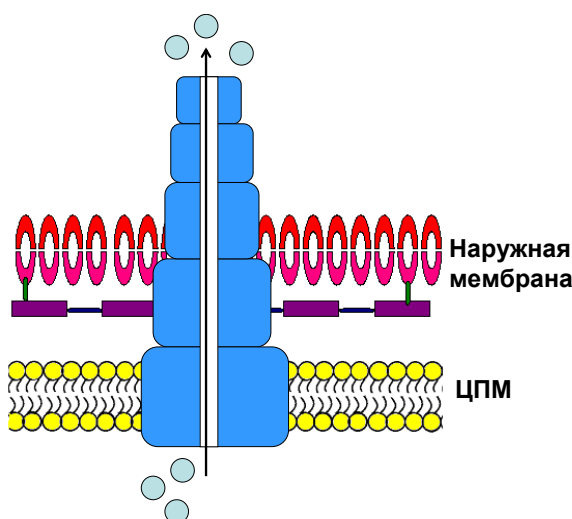


Рисунок 33 – Бактериальная система секреции VI типа.

**Система секреции VII типа (Т7SS)** характерна для микобактерий (*Mycobacterium tuberculosis*, *M. bovis*, *M. avium*, *M. marinum*). В составе этой системы секреции присутствует две поры. Одна пора располагается в цитоплазматической мембране, а другая - в микомембране - наружной части клеточной стенки, содержащей липиды (рисунок 8.34).

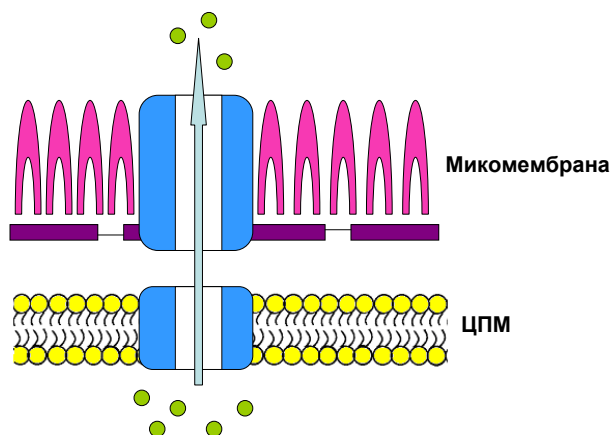


Рисунок 34 – Бактериальная система секреции VII типа.

Таким образом, среди бактериальных систем секреции описаны как одноэтапные (одношаговые), так и двухэтапные (двухшаговые). У одноэтапных систем секреции пренос белков происходит непосредственно из цитоплазмы во внешнюю среду. У двухэтапных систем секреции секретируемый белок вначале переносится из цитоплазмы бактериальной клетки в периплазматическое пространство, а затем – во внешнюю среду.

### Рост и размножение бактерий

Полученная клеткой энергия в процессе дыхания или брожения используется для роста и размножения бактерий.

**Рост** - это увеличение массы отдельной клетки в результате синтеза клеточного материала. Во время роста размеры клетки увеличиваются. После достижения определенных размеров клетка прекращает рост и начинает делиться (размножаться). **Размножение** бактерий – это способность бактерий к самовоспроизведению (увеличению количества особей).

Для подавляющего большинства бактерий характерно **бинарное поперечное деление**, приводящее к образованию двух одинаковых дочерних клеток (рисунок 35).

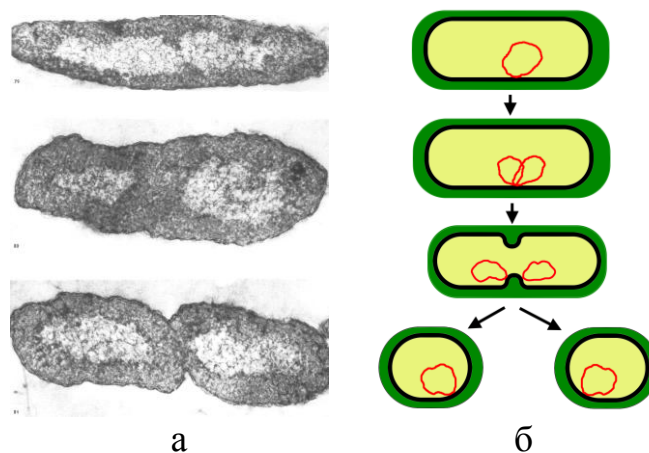


Рисунок 35 - Бинарное деление бактериальной клетки: а – электронная микрофотография; б – схема деления.

Деление бактериальной клетки начинается после завершения репликации бактериальной хромосомы. При репликации каждая из двух нитей ДНК служит матрицей для синтеза комплементарной дочерней цепи ДНК. В репликации участвует фермент ДНК-полимераза. В результате удвоения родительской ДНК происходит образование двуспиральных дочерних молекул ДНК. Затем в средней части клетки формируется поперечная перегородка (септа), которая делит цитоплазму материнской клетки на две дочерние. Одновременно с этим синтезируется клеточная стенка, образуя полноценную перегородку между двумя дочерними клетками.

Некоторые микроорганизмы размножаются путем **почкования**. Особенно этот способ характерен для дрожжей. При почковании на одном из полюсов материнской клетки образуется маленький вырост (почка). Постепенно почка достигает размеров материнской клетки и отделяется от нее (рисунок 36).

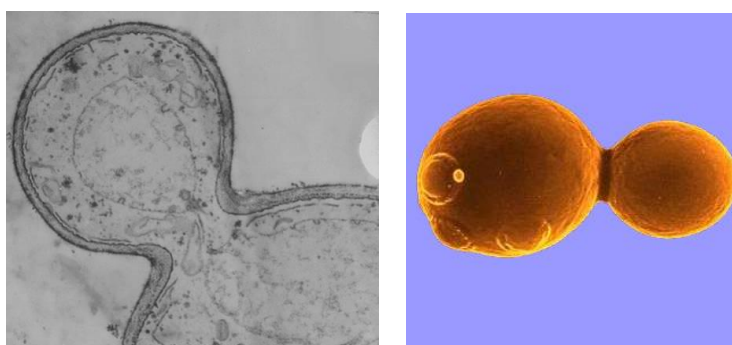


Рисунок 36 - Почкование дрожжей.

Размножение бактерий изучают при их культивировании в жидкой или на плотной питательных средах. В жидкой питательной среде культивирование может носить непрерывный или периодический характер. Для производства биомассы бактерий применяют культивирование в аппаратах-культиваторах (рисунок 37).

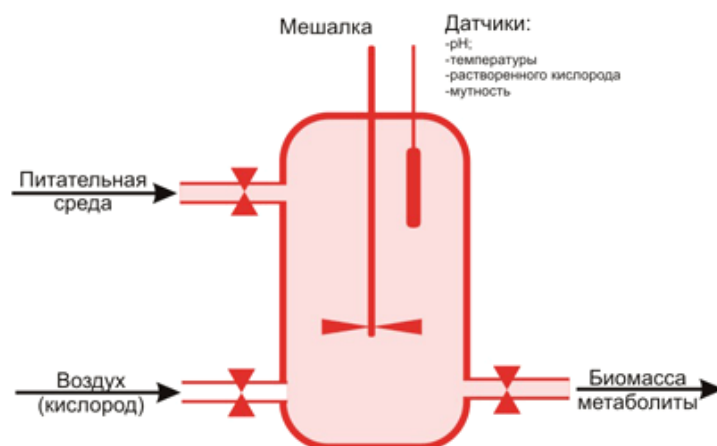


Рисунок 37 – Схема аппарата-культиватора.

При **непрерывном культивировании** используется открытая система с возможностью подачи свежей питательной среды и вывода из аппарата-культиватора (ферментера) накопленной биомассы или метаболитов. При



**периодическом культивировании** питательные вещества в систему дополнительно не вводятся, а продукты обмена не удаляются. В этом случае размножение бактерий в жидкой питательной среде характеризуется сменой фаз или стадий (рисунок 38):

- **лаг-фаза** - начальная стадия адаптации бактерий к питательной среде. В эту фазу наблюдается синтез адаптивных ферментов. Лаг-фаза представляет собой период от момента внесения (посева) бактерий в питательную среду до их роста. В этой фазе число живых бактерий не увеличивается, а может даже уменьшаться. Продолжительность этой фазы составляет 2-4 часа;

- **экспоненциальная (логарифмическая) фаза** (лог-фаза) – фаза выраженного прироста численности бактерий (увеличение количества микробных клеток в геометрической прогрессии: в конце первой генерации из одной клетки образуется две, в конце второй - четыре и так далее). В этот период скорость размножения клеток и увеличение бактериальной популяции максимальны. Период генерации, то есть период времени между двумя последовательными делениями бактерий, постоянный для данного вида микроорганизмов. Продолжительность этой фазы - 5-6 часов;

- **стационарная фаза** - фаза максимального накопления клеток и развития равновесия между размножением и гибелью клеток. Число новых бактерий почти равно числу отмерших, то есть наступает равновесие между погибшими клетками и вновь образующимися клетками. Увеличения численности микроорганизмов в эту стадию не происходит. Продолжительность этой фазы - 2 часа;

- **фаза отмирания** - уменьшение численности популяции в связи с уменьшением питательных веществ и изменением условий культивирования (изменение рН, концентрации ионов и др.). Продолжительность этой фазы - около 5 часов. Остающиеся в живых клетки переходят в состояние покоя.

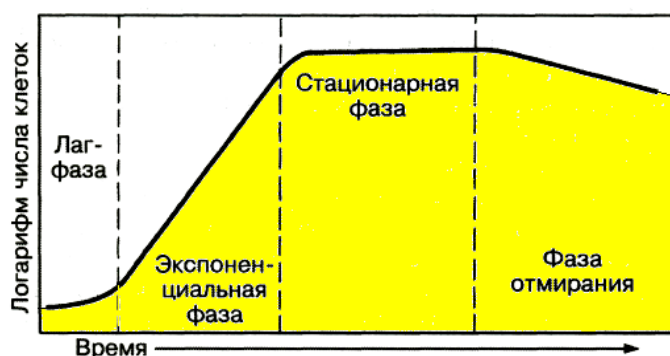


Рисунок 38 – Размножение бактерий в жидкой питательной среде.

Большинство микроорганизмов при благоприятных условиях делятся пополам через каждые 20-30 минут. При такой скорости деления из одного микроорганизма через 5 часов образуется  $10^{24}$  особей.

Размножение бактерий происходит на питательных средах, содержащих необходимые компоненты, в оптимальных температурных условиях, при определенном насыщении среды кислородом.

Размножение характеризуется:

- **временем генерации** - интервалом времени, за который число клеток удваивается;

- **концентрацией бактерий** - числом клеток в 1 мл.

**По температурному оптимуму** роста выделяют три основные группы микроорганизмов.

1. **Психрофилы** - растут при температурах ниже  $+20^{\circ}\text{C}$ .

2. **Мезофилы** - растут в диапазоне температур от  $+20^{\circ}\text{C}$  до  $+45^{\circ}\text{C}$  (в основном оптимальная температура составляет  $37^{\circ}\text{C}$ ).

3. **Термофилы** - растут при температурах выше  $+45^{\circ}\text{C}$ .

### Питательные среды

Выращивание микроорганизмов производится на субстратах, называемых питательными средами. Питательные среды должны содержать достаточное количество питательных веществ в доступной для усвоения форме, иметь оптимальное значение pH, быть стерильными.

**Питательные среды классифицируются на группы.**

**По составу** выделяют простые и сложные питательные среды. К **простым** (обычным) питательным средам относятся пептонная вода, мясо-пептонный бульон, мясо-пептонный агар. К **сложным** (богатым) питательным средам относятся кровяной агар, асцитический агар, сывороточный агар.

**По консистенции** выделяют жидкие, полужидкие и плотные среды. **Жидкие среды** представляют собой настои, отвары, бульоны, приготовленные на основе мяса, рыбы, овощей (естественные среды), а также композиции определенных концентраций химических соединений (искусственные среды). Широко распространенной жидкой питательной средой является мясо-пептонный бульон (МПБ). **Полужидкие среды** получают путем добавления к жидким средам 0,5-0,9% агара или желатина (в частности, мясо-пептонный желатин - МПЖ). К **плотным питательным средам** относят среды, содержащие 1,5-3% агара, в частности, мясо-пептонный агар - МПА (рисунок 39).

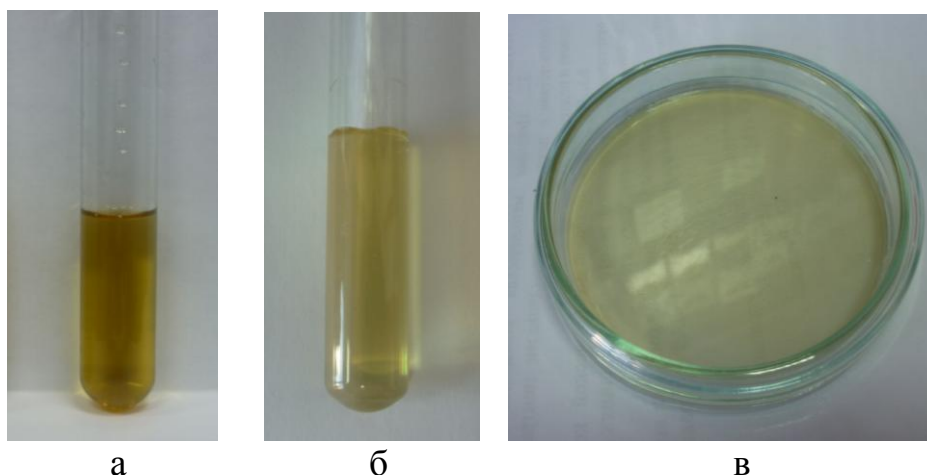


Рисунок 39 – Питательные среды: а – МПБ, б – МПЖ, в – МПА.

**Агар** – это полисахарид сложного состава из морских водорослей, основной



отвердитель для плотных сред.

В качестве универсального источника углерода и азота применяют пептоны (продукты расщепления белков пепсином) или различные гидролизаты (мясной, рыбный, казеиновый, дрожжевой).

**По происхождению** выделяют естественные, полусинтетические и синтетические среды. **Естественные питательные среды** - это природные органические среды непостоянного состава, которые включают продукты животного или растительного происхождения. К ним относятся пептоны, кровь, отвары и экстракты, полученные из природных субстратов (мясо, рыба, крупы).

**Полусинтетические питательные среды** кроме органических и неорганических веществ известного состава содержат продукты природного происхождения (картофельная среда с глюкозой, дрожжевая среда).

**Синтетические питательные среды** состоят из определенных количеств органических и неорганических химических соединений известного состава. Их состав всегда постоянный.

**По назначению** среды подразделяются на основные и специальные. **Основные (универсальные) среды** пригодны для роста большинства бактерий. К ним относятся мясо-пептонный агар (МПА) и мясо-пептонный бульон (МПБ).

К **специальным средам** относятся дифференциально-диагностические, элективные и накопительные питательные среды.

**Дифференциально-диагностические среды** представляют собой сложные среды, позволяющие выделять чистую культуру бактерий с одновременной их идентификацией по какому-либо биохимическому свойству. Дифференциально-диагностические среды содержат питательную основу, дифференцирующее вещество (субстрат) и индикатор. Эти среды позволяют идентифицировать бактерии по следующим признакам:

- гликолитическая активность (разложение углеводов) – среды Эндо, Гисса, Ресселя, Клиглера и др.;
- протеолитическая активность (разложение белков) – МПЖ, свернутая сыворотка, молочный агар;
- гемолитическая активность (разрушение эритроцитов) – кровяной агар (рисунок 40).

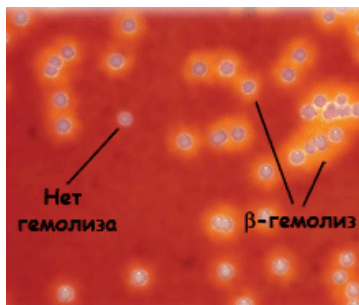


Рисунок 40 – Кровяной агар (содержит дефибрированную кровь, позволяет выделять бактерии, обладающие гемолитической активностью).

В частности, **среда Эндо** предназначена для выделения энтеробактерий и родственных микроорганизмов с одновременной их дифференцировкой по

способности утилизировать лактозу. Питательной основой этой среды является мясо-пептонный агар, дифференцирующим веществом – лактоза, индикатором – фуксин-сернистый реактив. На такой среде лактозопозитивные бактерии (*E. coli*) образуют темно-красные колонии с металлическим блеском, а лактозонегативные бактерии (шигеллы, сальмонеллы) – колонии серо-белого цвета (рисунок 41).



Рисунок 41 – Рост кишечной палочки на среде Эндо.

**Элективные питательные среды** содержат вещества, подавляющие рост одних бактерий, но не влияющие на рост других бактерий. Эти среды служат для выделения определенных видов бактерий из смешанных популяций. К элективным средам относятся желточно-солевой агар, селенитовая среда, среда Мюллера. Селективные среды содержат не только вещества, подавляющие рост отдельных видов бактерий, но и стимуляторы роста других бактерий. Например, солевой агар, предназначенный для выделения стафилококков, в качестве элективного фактора содержит повышенную концентрацию (10%) хлорида натрия. Желточно-солевой агар содержит не только элективный фактор (хлорид натрия), но и дифференцирующее вещество (желток), позволяющее определять наличие лецитиназы (рисунок 42).

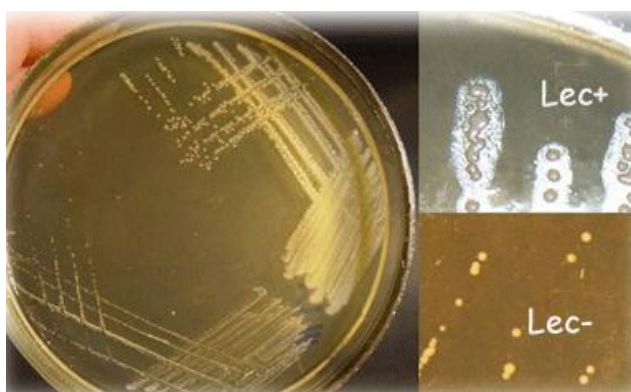


Рисунок 42 - Желточно-солевой агар для выделения стафилококков.

**Среда Плоскирева** предназначена для выделения патогенных энтеробактерий (шигеллы, сальмонеллы) с одновременным подавлением роста кишечной палочки. Элективным фактором этой среды являются соли желчных кислот. Так как рост кишечной палочки подавляется не полностью, для ее выявления в среду добавлена лактоза (дифференцирующее вещество). Лактозонегативные бактерии (шигеллы, сальмонеллы) образуют на этой среде

бесцветные колонии, а лактозоположительные бактерии (кишечная палочка) – темно-красные колонии (рисунок 43).

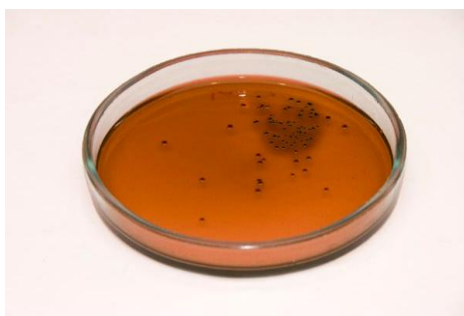


Рисунок 43 – Среда Плоскирева.

**Накопительные среды** (обогащительные среды, среды обогащения) - это среды, на которых определенные виды культур растут быстрее и интенсивнее сопутствующей микрофлоры. Такие среды могут содержать селективный фактор для подавления роста сопутствующей микрофлоры или факторы, способствующие росту требуемых бактерий, например, солевой бульон для стафилококков, селенитовый бульон для сальмонелл (рисунок 44).



Рисунок 44 – Накопительные среды: а - солевой бульон, б - селенитовый бульон.

Так, солевой бульон (обогащительная среда для стафилококков) в качестве селективного фактора содержит 10% хлорида натрия, селенитовый бульон (обогащительная среда для сальмонелл) в качестве селективного фактора содержит селенит натрия, а сахарный бульон (обогащительная среда для стрептококков) содержит глюкозу в качестве ростового фактора.

Для длительного хранения микроорганизмов применяют **консервирующие среды** - с глицерином, мелом и др.

**Характер роста бактерий на питательных средах.** В жидких питательных средах при размножении бактерий наблюдают равномерное помутнение среды, поверхностный рост в виде пленок, пристеночный, придонный рост в виде осадка. На плотных питательных средах отмечается сплошной рост культуры (в виде газона) или образование изолированных колоний (рисунок 45).

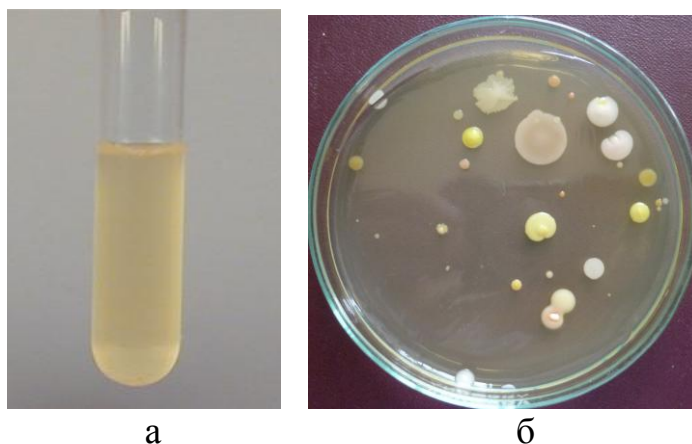


Рисунок 45 – Характер роста бактерий в жидких (а) и на плотных (б) питательных средах.

Колонии характеризуют по форме, размеру, цвету, очертаниям края, характеру поверхности, прозрачности, структуре, консистенции (рисунок 46).

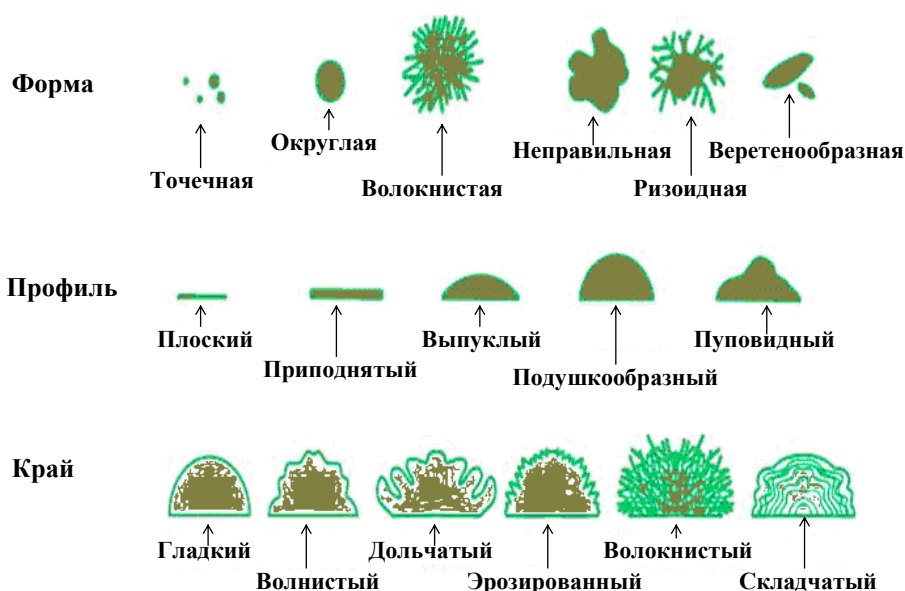


Рисунок 46 – Признаки колоний микроорганизмов.

Некоторые микроорганизмы имеют свои особенности размножения. Так, у **грибов** наблюдаются следующие типы размножения:

- **вегетативное размножение** (отделение от грибного мицелия частей, которые образуют новую грибницу). При этом типе размножения мицелий может фрагментироваться на артроспоры и хламидоспоры;

- **бесполое размножение** (созревшие конидии осыпаются, спорангии лопаются, споры из них высыпаются и прорастают в гифы);

- **половое размножение** (мужские и женские клетки сливаются, в результате образуется зигота с парным набором хромосом).

У **дрожжей**, в свою очередь, наблюдается вегетативное размножение (почкованием или делением) и половое размножение (слияние клеток).

## Вопросы для контроля усвоения материала

1. Охарактеризуйте химический состав микробных клеток.
2. Что такое эндо- и экзоферменты бактерий?
3. Расскажите о методах изучения ферментативной активности бактерий.
4. Охарактеризуйте механизмы транспорта веществ внутрь микробной клетки.
5. Что такое дыхание бактерий?
6. Расскажите о процессах брожения.
7. Что такое энергетический метаболизм бактерий?
8. Что такое конструктивный метаболизм бактерий?
9. Расскажите о системах секреции веществ из микробных клеток.
10. Какие способы размножения бактерий Вы знаете?
11. Как классифицируются питательные среды?
12. Что такое элективные и дифференциально-диагностические среды?

## Тренировочные тестовые задания

1. Для определения сахаролитических свойств используют среду (один правильный ответ):  
а - Клауберга  
б - Кита-Тароци  
в - Гисса  
г - Эндо  
д - Плоскирева
2. Фосфор необходим бактериям для синтеза (один правильный ответ):  
а - белка  
б - нуклеиновых кислот  
в - полисахаридов  
г - углеводов  
д - липидов
3. Для выявления гемолизина используют среду (один правильный ответ):  
а - Эндо  
б - Плоскирева  
в - кровяной агар  
г - МПЖ  
д - желточно-солевой агар
4. По типу питания выделяют следующие группы бактерий (несколько правильных ответов):  
а - психрофилы  
б - гетеротрофы  
в - мезофиллы

г - эукариоты  
д - аутотрофы

5. По оптимальным температурным условиям роста различают (несколько правильных ответов):

а - психрофилы  
б - автотрофы  
в - мезофилы  
г - гетеротрофы  
д - термофилы

6. Оптимальная температура для выращивания психрофильных бактерий (один правильный ответ):

а - менее 20<sup>0</sup>С  
б - 20-45<sup>0</sup>С  
в - 45-55<sup>0</sup>С  
г - 55-60<sup>0</sup>С  
д - выше 60<sup>0</sup>С

7. Оптимальная температура для выращивания мезофильных бактерий (один правильный ответ):

а - менее 20<sup>0</sup>С  
б - 20-45<sup>0</sup>С  
в - 45-55<sup>0</sup>С  
г - 55-60<sup>0</sup>С  
д - выше 60<sup>0</sup>С

8. Оптимальная температура для выращивания термофильных бактерий (один правильный ответ):

а - 5-10<sup>0</sup>С  
б - 10-20<sup>0</sup>С  
в - 20-30<sup>0</sup>С  
г - 20-45<sup>0</sup>С  
д - выше 45<sup>0</sup>С

9. Бактерии подразделяются на аутотрофы и гетеротрофы по источнику усвоения (один правильный ответ):

а - водорода  
б - кислорода  
в - углерода  
г - азота  
д - фосфора

10. Основными продуктами маслянокислого брожения являются (один правильный ответ):

а - этиловый спирт

- б - масляная и уксусная кислоты
- в - молочная кислота
- г - молочная кислота и этиловый спирт
- д - метиловый спирт

11. Основными продуктами спиртового брожения являются (один правильный ответ):

- а - этиловый спирт и углекислый газ
- б - масляная и уксусная кислоты
- в - молочная кислота
- г - молочная кислота и этиловый спирт
- д - метиловый спирт

12. Основными продуктами молочнокислого брожения являются (один правильный ответ):

- а - пропиловый спирт
- б - масляная и уксусная кислоты
- в - муравьиная кислота
- г - молочная кислота, уксусная кислота и этиловый спирт
- д - метиловый спирт

13. У бактерий выделяют следующие типы переноса веществ внутрь клетки (несколько правильных ответов):

- а - активный транспорт
- б - фагоцитоз
- в - транслокация радикалов
- г - простая диффузия
- д - облегченная диффузия

14. Пермеазы – это (один правильный ответ):

- а - адгезины
- б - ферменты агрессии
- в - транспортные белки
- г - группа антибиотиков
- д - экзоферменты

15. Перенос веществ внутрь клетки без затраты энергии происходит при (несколько правильных ответов):

- а - активном транспорте
- б - транслокации радикалов
- в - облегченной диффузии
- г - пассивной диффузии
- д - экзоцитозе

16. Перенос веществ внутрь клетки с затратой энергии происходит при (несколько правильных ответов):

- а - активном транспорте
- б - пассивной диффузии
- в - облегченной диффузии
- г - транслокации групп
- д - экзоцитозе

17. В факторах роста нуждаются (один правильный ответ):

- а - аутотрофы
- б - гетеротрофы
- в - ауксотрофы
- г - прототрофы
- д - фототрофы

18. К факторам роста относятся (несколько правильных ответов):

- а - витамины
- б - пурины
- в - пиримидины
- г - аминокислоты
- д - антибиотики

19. В какой фазе отсутствует прирост микробной популяции (несколько правильных ответов):

- а - лаг-фаза
- б - фаза экспоненциального роста
- в - стационарная фаза
- г - фаза ускоренного отмирания
- д - лог-фаза

20. В какой фазе наблюдается максимальный прирост микробной популяции (несколько правильных ответов):

- а - лаг-фаза
- б - фаза экспоненциального роста
- в - стационарная фаза
- г - фаза ускоренного отмирания
- д - лог-фаза

21. Не растут в присутствии кислорода (один правильный ответ):

- а - облигатные аэробы
- б - факультативные анаэробы
- в - облигатные анаэробы
- г - микроаэрофилы
- д - аэротолерантные бактерии

22. Растут в присутствии кислорода (несколько правильных ответов):

- а - облигатные аэробы
- б - факультативные анаэробы



- в - облигатные анаэробы
- г - микроаэрофилы
- д - капнофилы

23. Сахаролитические свойства бактерий оценивают (один правильный ответ):

- а - на мясо-пептонном агаре
- б - в мясо-пептонном бульоне
- в - в столбике желатина
- г - на средах Гисса
- д - в среде 199

24. О сахаролитической активности бактерий судят по образованию в среде (несколько правильных ответов):

- а - кислоты
- б - воды
- в - кислоты и газа
- г - сероводорода
- д - индола

25. “Пестрый ряд” используют для определения (один правильный ответ):

- а - морфологических свойств
- б - тинкториальных свойств
- в - сахаролитических свойств
- г - протеолитических свойств
- д - липолитических свойств

Правильные ответы: 1в, 2б, 3в, 4вд, 5авд, 6а, 7б, 8д, 9в, 10б, 11а, 12г, 13авгд, 14в, 15вг, 16аг, 17в, 18абвг, 19вг, 20бд, 21в, 22абгд, 23г, 24ав, 25в.

### Список учебной литературы

1. Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии: Учебное пособие для студентов медицинских вузов / Под ред. А.А. Воробьева, А.С. Быкова – М.: Медицинское информационное агентство, 2003. – 236 с.: ил.

2. Воробьев А.А. Медицинская и санитарная микробиология: учеб. пособие для студ. высш. мед. учеб. заведений / А.А. Воробьев, Ю.С. Кривошеин, В.П. Ширококов. – 2-е изд., стер. – М.: Издательский центр “Академия”, 2006. – 464 с.

3. Воробьев А.А., Быков А.С., Пашков Е.П., Рыбаков А.М. Микробиология: Учебник. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 1998. – 336 с.: ил.

4. Коротяев А.И., Бабичев С.А. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология: учебник для мед. вузов / А.И. Коротяев, С.А. Бабичев. - СПб.: СпецЛит, 2008. – 4-е изд., испр и доп. - 767 с.: ил.

5. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: Учебник для студентов медицинских вузов / Под ред. А.А. Воробьева. – 2-е изд., испр. и доп. –

М.: ООО “Медицинское информационное агентство”, 2006. – 704 с.; ил., табл.

6. Мотавкина Н.С., Артемкин В.Д. Атлас по микробиологии и вирусологии. М.: Медицина, 1976. – 307 с.: ил.

7. Пожарская В.О., Райкис Б.Н., Казиев А.Х. Общая микробиология с вирусологией и иммунологией (в графическом изображении). Учебное пособие. М.: “Триада X”, 2004. – 352 с.

8. Поздеев О.К. Медицинская микробиология / Под ред. В.И. Покровского. – 3-е изд., стереотип. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005. – 768 с.: ил.

9. Руководство по медицинской микробиологии. Общая и санитарная микробиология. Книга 1 / Колл. Авторы // Под редакцией Лабинской А.С., Воиной Е.Г. – М.: Издательство БИНОМ, 2008. – 1080 с.: ил.

10. Частная медицинская микробиология с техникой микробиологических исследований: Учебное пособие / Под ред. А.С. Лабинской, Л.П. Блинковой, А.С. Ещиной. – М.: ОАО “Издательство “Медицина”, 2005. – 600 с.: ил.

11. Информационные ресурсы по медицинской микробиологии и иммунологии (Интернет – сайты):

- <http://www.microbiology.ru>
- <http://ru.wikipedia.org>
- <http://immunology.ru>
- <http://www.rusmedserv.com>
- <http://www.molbiol.ru>

Иллюстрированное учебное пособие

Литусов Николай Васильевич

Физиология бактерий