

**Физиология и биохимия бактерий.  
Дыхание и размножение микробов.  
Питание. Питательные среды и их  
классификация.**

# План

1. Химический состав бактериальной клетки: вода, белки, жиры, углеводы и минералы.
2. Питание.
  - Типы питания
  - Механизмы обмена веществ
  - Ферменты
  - Механизмы питания
3. Дыхание: аэробы и анаэробы; редокс-потенциал.
4. Рост и размножение:
  - Репликация ДНК
  - Размножение на средах
  - Классификация сред

Цель – показать взаимодействие процессов питания, дыхания, роста, развития, размножения бактерий и их особенности

# Химический состав бактериальной клетки

*Для отправления жизненно важных процессов бактериальная клетка (БК) должна поддерживать постоянство своего химического состава, который мало чем отличается от химического состава эукариотической клетки*

**ВОДА** (составляет главную массу тела БК).

*Вегетативная клетка – 70-98%*

*Спора – 40%*

Часть воды, находящаяся в *свободном состоянии*, является универсальным раствором и растворителем. Большая часть воды находится *в связанном состоянии*. Количество воды подвержено большим колебаниям. При лишении воды большинство бактерий сохраняют жизнеспособность, но перестают размножаться.

*Лиофильная сушка.*

Биохимик **А.М.Кузин** «Вода является тем фоном, на котором разворачиваются все химические процессы клетки – средой, в которой и в самой теснейшей участии которой осуществляются превращения веществ»

# Химический состав бактериальной клетки

**Белки** (около 2000) = **40-80%** (сухой массы)

- **Протеины** – простые белки
- **Протеиды** – сложные белки (нуклеопротеиды, липопротеиды, гликопротеиды).
- Большая часть белков – **ферменты**

**Углеводы** = **30-50%** (сухой массы) – *полисахариды и углеводы, связанные с белками и липидами*

**Липиды** = **1,7 – 40%** (сухой массы) (*фосфолипиды, жирные кислоты и глицериды*).

- Основная масса в ЦПМ
- Связаны с другими веществами БК (белки, углеводы)
- Основная функция – защитная (микобактерии – кислотоустойчивые бактерии), липиды обеспечивают устойчивость к кислотам, щелочам, спиртам и т.д.

# Химический состав бактериальной клетки

## **Минеральные вещества:**

- **Фосфор** – 50 % (золы)
- **Калий** – 25% (золы)
- **Микроэлементы** – **железо** (*входит в состав окислительно-восстановительных ферментов - цитохромоксидаза, каталаза, пероксидаза и т.д.*)
- **NaCl** – *поддерживает изотоничность*
- **ДНК и РНК** = **10-30%** (сухой массы)

# Питание бактерий

В теле БК, имеющей сложный химический состав непрерывно совершаются процессы обмена веществ: катаболизма (диссимиляции) и анаболизма (ассимиляции). Питание заключается в синтезе органических веществ для строительства клеточных органелл из **УГЛЕРОДА, АЗОТА, КИСЛОРОДА и ВОДОРОДА**

1. Обеспечивает поступление в клетку питательных веществ;
2. Обеспечивает клетку энергией

Бактерии потребляют – O, H, C и N.

По потреблению **УГЛЕРОДА** делятся на:

1. **Автотрофы** (литотрофы) добывают C из углекислоты и минералов. Это сапрофиты почвы, воды, воздуха
2. **Гетеротрофы** (органотрофы) усваивают C из готовых органических веществ:
  - **Сапрофиты**
  - **Паразиты (паратрофы)**

По усвоению **АЗОТА** гетеротрофы делятся:

1. Ассимилируют из воздуха;
2. Ассимилируют из аммонийных солей;
3. Ассимилируют из аммонийных солей в присутствии аминокислот и пуринов;
4. Ассимилируют в присутствии факторов роста
5. Нуждаются в сложных питательных средах

# Ферменты бактерий

Питание БК – сложный процесс (ферментативные реакции), сочетающий катаболизм – приводящий к расщеплению крупных молекул на более простые соединения с высвобождением энергии, и анаболизм (конструктивный метаболизм) – приводящий к увеличению массы тела и потреблению энергии)

- *Эндоферменты и экзоферменты*
- **Конститутивные** (*существуют и в отсутствии субстрата*)
- **Индукцибельные** (*образуются при наличии субстрата*)
- **Репрессибельные** (*их синтез подавляется при избытке субстрата*)

## Классы ферментов

- *Оксидоредуктазы* (окислительно-восстановительные);
- *Трансферазы* (перенос радикалов и атомов);
- *Гидролазы* (расщепляют вещества на более простые с присоединением воды);
- *Лиазы* (отщепляют от субстратов химические группы, не используя воду);
- *Изомеразы* (превращают субстрат в изомеры);
- *Лигазы-синтетазы* (ускоряют синтез сложных соединений).

Ферментативная активность – **«ПЕСТРЫЙ РЯД»**

# Механизмы питания

Поступление питательных веществ в БК – сложный физико-химический процесс, зависящий от концентрации питательных веществ в БК и вне ее, проницаемости клеточной оболочки, прежде всего ЦПМ, особенностей внешней среды и т.д.

## 1. Проникновение веществ:

- **Активный перенос** (концентрация веществ в БК выше, чем в окружающей среде) – расход энергии (АТФ);
- **Пассивная диффузия** (концентрация веществ в окружающей среде выше, чем в БК) – энергия не расходуется;
- **Облегченная диффузия** – энергия не расходуется;
- **Транслокация радикалов** – участвуют ферменты пермеазы

## 2. Выход веществ из БК

- **Пассивная диффузия**
- **Облегченная диффузия**



# Дыхание бактерий

- Процесс дыхания (биологического окисления) – все реакции, которые служат образованию энергии (АТФ). Это химические реакции, идущие с выделением тепла (энергетический метаболизм).
  - По типу дыхания все микробы делятся на 2 основные группы: **аэробы и анаэробы**.
1. **Аэробный тип** – обеспечивается кислородом воздуха и сред. Выделяется много энергии.  
Пример: окисление глюкозы:  
 **$C_6H_{12}O_6 + 6CO_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O + 688 \text{ ккал}$** 
    - Выращивание без приспособлений;
    - Непрерывное культивирование;
    - В глубине бульона;
    - Аэрирование (качалка).
  2. **Анаэробный тип – брожение**. Реакция молекулярного расщепления органических и неорганических соединений. Выделяется мало энергии.

Пример. Расщепление глюкозы дрожжами:



*Облигатный и факультативный*

# Дыхание бактерий

*В зависимости от потребностей в кислороде бактерии делятся на:*

- **Облигатные (строгие) аэробы** – используют в качестве акцептора водорода лишь свободный кислород, снижение его содержания приводит к прекращению роста микробов; накопление перекиси водорода нейтрализуется ферментами каталазой, пероксидазой, супероксиддисмутазой (туберкулезная, дифтерийная палочки, холерный вибрион);
- **Облигатные (строгие) анаэробы** – растут только в бескислородной среде, не имеют фермента каталазы, разрушающего перекись водорода, накапливающуюся в присутствии кислорода и оказывающую бактерицидное действие на анаэробы (возбудители ботулизма, столбняка и т.д.); для анаэробов  $O_2$  – яд!!! Нет фермента каталазы, нейтрализующего  $H_2O_2$ , образующуюся в присутствии  $O_2$ .
- **Факультативные анаэробы** – растут как в присутствии кислорода, так и без него (большинство бактерий – дизентерийная, брюшнотифозная палочки, стафилококки и стрептококки и др.)
- ***Микроаэрофилы (капнофилы)*** – лучше растут при повышенном содержании  $CO_2$  и сниженном содержании кислорода (кампилобактерии и др.).

**Аэротолерантность облигатных анаэробов** – их способность сохранять жизнеспособность в присутствии кислорода.

# Выращивание анаэробов

- **Анаэростаты** – специальные аппараты (откачивается атмосферный воздух, закачивается инертный газ, или смесь азота с углекислым газом, или бытовой газ);
- **Специальные газовые пакеты (Gas-pak)**, наполненные газом с чашками Петри с готовой питательной средой);
- **Посев уколом в полужидкий агар** или тиогликолатную среду;
- **Посев на среду Китт-Тароцци** – глюкозный бульон с добавлением кусочков печени(фарш, яичный белок, вата, пластиковые нити) для адсорбции кислорода, после посева среду заливают слоем стерильного вазелинового масла (преграда для O<sub>2</sub>)
- **Метод Вильяля-Вейона** – расплавленный и остуженный (43-45°C) агар с засеянным материалом набирают в стеклянные трубки с запаянными концами и выращивают в термостате.
- **Биологический метод Фортнера.**

# Посев уколом в полужидкий агар



## Окислительно-восстановительный (редокс) потенциал

- **Степень аэробности** микроорганизмов выражается величиной **окислительно-восстановительного (редокс) потенциала**.
- Обозначается символом ***rH<sub>2</sub>***
- В водном растворе, насыщенном O<sub>2</sub>  $rH_2 = 41$ ;
- В водном растворе, насыщенном H<sub>2</sub>  $rH_2 = 0$
- Шкала от 0 до 41 характеризует степень анаэробности:
  - **Облигатные анаэробы** -  $rH_2$  не более 12 (3-5 размножение);
  - **Облигатные аэробы** -  $rH_2 = 14-20$ ;
  - **Факультативные аэробы** -  $rH_2 = 0-20$

Измеряется электрометрически с использованием окислительно-восстановительных красителей (метиленовый синий, толуидиновый синий, резозурин)

**rH<sub>2</sub>** – мера способности раствора отдавать или принимать электроны, т.е. окисляться или восстанавливаться. Измеряется в вольтах.

*Два процесса (питание и дыхание) - единый комплекс, обеспечивающий существование микробов*

# Рост и размножение микробов

- **Рост** – одна из основных функций любой живой клетки.
- **В.Д. Тимаков** – *«Рост – это координированное воспроизведение всех клеточных компонентов и структур, ведущее в конечном итоге к увеличению массы клетки»*. Есть и другие определения роста.
- Увеличение массы клетки не может быть бесконечным. По достижению определенного возраста клетка микроба *начинает делиться* (на 2 или более равноценные в биологическом отношении дочерние клетки или гетероморфное деление), т.е. размножаться.
- У одноклеточных организмов размножение ведет к увеличению числа индивидуумов, составляющих популяцию или культуру.
- Бактерии размножаются путем **простого** (чаще бинарного) **деления**. **Скорость деления – 20-30 минут.**
- Кишечная палочка – 16-20 мин.; стрептококк и клостридии – 15 мин.; *S.typhi* – 24 мин.; шигеллы – 35 мин.
- *Прокариоты делятся в 100 раз быстрее, чем эукариотическая клетка.*

# Деление бактерий. Репликация ДНК

Деление бактерий состоит из ряда последовательных этапов.

Разделению и расхождению клеток предшествует ***удвоение ДНК нуклеоида, его репликация*** – самый важный и сложный процесс, который идет при помощи ферментов ДНК-полимераз 1, 2 и 3. Последний самый важный.

Различают три периода репликации ДНК бактерий:

1. **Инициация** – побуждение к началу репликации;
2. **Период синтеза** (элонгация);
3. ***Период терминации***

# Механизм репликации ДНК и деления БК

1. О «**созревании**» бактерии сигнал идет **из цитоплазмы в ядро**;
2. В ядре (нуклеоиде) активизируется **ген-инициатор**. Он контролирует выработку **белка-инициатора**.
3. Белок –инициатор действует на **репликатор** (участок ДНК, прикрепленный к септной мезосоме).
4. Одна нить ДНК разрывается и спираль ДНК расплетается (помогают **«расплетающие» белки**).
5. Образуются 2 нити ДНК, каждая из которых служит матрицей для сборки комплементарной цепи.
6. В новой (дочерней) клетке есть нить «старой» ДНК и «новой» ДНК.
7. Синтезируются ЦПМ.
8. Формируется поперечная КС и две клетки (дочерние) разъединяются



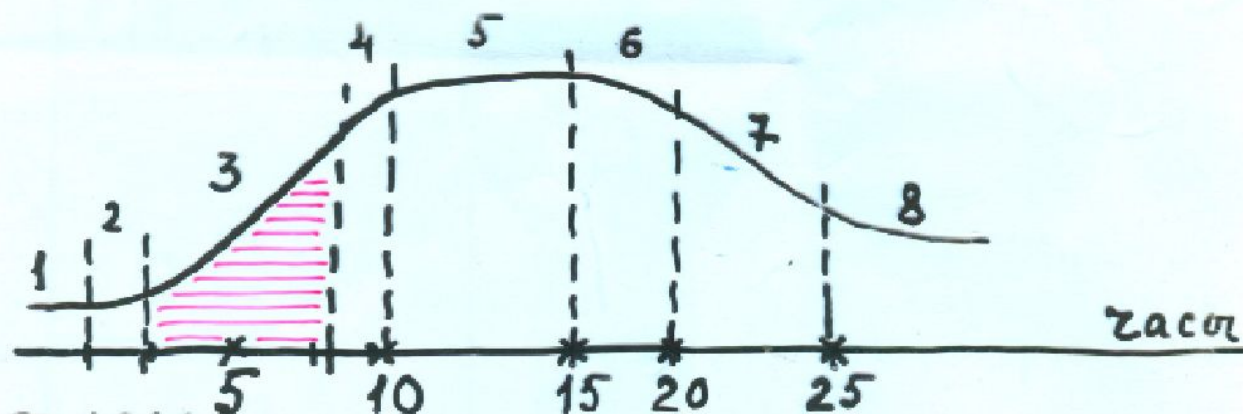
# Размножение популяции микробов

- В ходе размножения популяции микробов – 2 параллельных процесса: **размножение и отмирание клеток.**

## Размножение на плотных питательных средах.

- На плотных питательных средах – из одной БК образуются **скопления – колонии.**
- Колонии имеют разную величину, консистенцию, окраску, формы, характер поверхности и краев, характерные для определенного вида микробов (**идентификационный признак**).
- Особенности колоний зависят от взаимного расположения разделившихся клеток, от характера их «движения» после деления: если характер движения скользящий – то колония **гладкая (S - форма)**, если клетки располагаются под углом – поверхность **шероховатая (R-форма)**

# Размножение на жидких питательных средах



ФАЗЫ:

1. Исходная (1-2 часа)
  2. Задержки размножения
  3. Экспоненциальная (5-6 часов)
  4. Отрицательного ускорения (2 часа)
  5. Стационарная (2 часа)
  6. Ускоренной дебели (3 часа)
  7. Логарифмической дебели (5 часов)
  8. Уменьшения скорости отмирания
- } лог-фаза

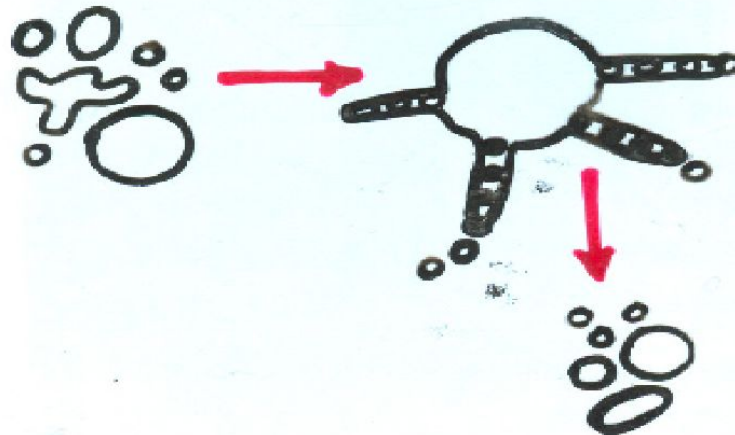
# Размножение скотобактерий

**СПИРОХЕТЫ**  
**РИККЕТСИИ** → поперечное деление

**АКТИНОМИЦЕТЫ** → фрагментация



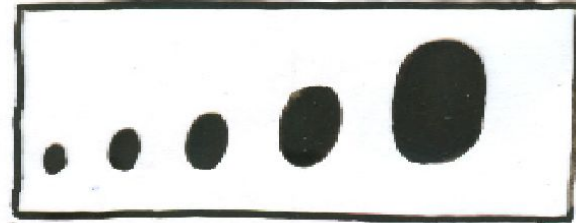
**МИКОПЛАЗМЫ**



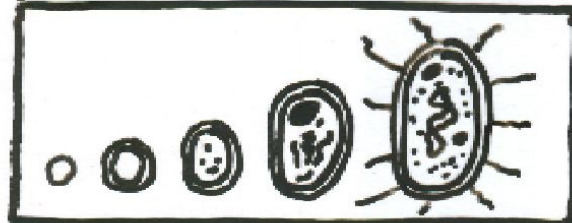
# Развитие хламидий (цикл занимает 48 часов)



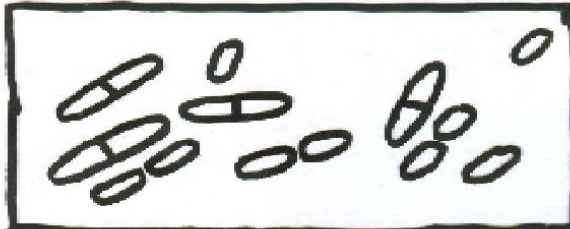
# Рост, развитие, размножение БК, рост популяции



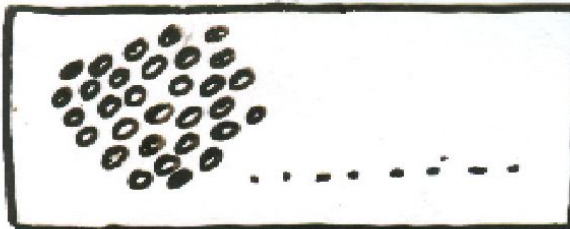
Рост



Развитие



Размно-  
жение



Рост  
популя-  
ции

# Питательные среды

- **Питательные среды** – искусственные (или естественные) сбалансированные смеси питательных веществ, в определенных концентрациях и сочетаниях, способствующие росту и размножению микроорганизмов.

## **Требования к ПС:**

- должны быть **стерильными**;
- Должны содержать **необходимые питательные вещества, соли, ростовые факторы**;
- Должны иметь **оптимальную рН**;
- Должны **быть влажными**.

## **Классификация ПС:**

- **Простые и сложные**;
- **Жидкие и плотные**;
- **Естественные, искусственные, синтетические**;
- **Основные и специальные – элективные (избирательные) и дифференциально-диагностические**



# Некультивируемые формы бактерий (НФБ)

- Имеются **вегетативные** (не споровые) **формы грамотрицательных микробов**, сохраняющие жизнеспособность **без размножения**.
- Они получили название **НФБ**.
- При в исследуемом материале НФБ их не удается культивировать на питательных средах.
- Имеют эпидемиологическое значение, являясь **«невидимками»**, сохраняющими жизнеспособность в течение многих лет.
- Обнаружение НФБ – **полимеразная цепная реакция (ПЦР)**