

МОРФОЛОГИЯ И ФИЗИОЛОГИЯ БАКТЕРИЙ И МЕТОДЫ ЕЁ ИЗУЧЕНИЯ

I. Морфология бактерий

Бактерии - это одноклеточные организмы, лишенные хлорофилла. Средние размеры бактериальной клетки от 2 до 6 мкм.

По форме бактерии делятся на три группы: шаровидные, палочковидные и извитые.

Шаровидные бактерии по - другому называются *кокки*. Форма кокков разнообразна: сферическая, ланцетовидная, бобовидная.

По взаимному расположению клеток после деления среди кокков выделяют:

- микрококки;
- диплококки (пневмококки, гонококки и менингококки);
- стрептококки;
- стафилококки;
- тетракокки;
- сарцины.

Кокки широко распространены во внешней среде, в организме человека, животных. Представители всех групп кокков, исключая микрококки, тетракокки и сарцины, являются возбудителями инфекционных заболеваний.

Палочковидные формы называют собственно *бактериями*. Палочки бывают длинные, короткие, толстые, тонкие. Средние размеры их – от 1 до 6 мкм. Бактерии различаются по внешнему виду: концы могут быть закруглены (кишечная палочка) обрублены (возбудитель сибирской язвы), заострены (возбудитель чумы), утолщены (возбудитель дифтерии).

После деления бактерии могут располагаться попарно (диплобактерии), цепочкой, иногда под углом друг к другу или крест - накрест. Большинство бактерий располагается беспорядочно. Среди бактерий есть изогнутые формы – вибрионы.

К извитым формам бактерий относятся спириллы и спирохеты.

Спириллы по внешнему виду напоминают изогнутую линию, большинство из них неблезнетворны. Клетки *спирохет* напоминает спираль, они отличаются числом витков в спирали, частотой витков, оформлением концов спирали. Характер движения спирохет различен: поступательное, вращательное, сгибательное, волнообразное. Непатогенные формы спирохет распространены в природе и в организме человека, имеются и болезнетворные виды - возбудители сифилиса, лептоспироза.

II. Строение бактериальной клетки

Бактериальная клетка состоит из следующих частей: трехслойной оболочки, цитоплазмы с различными органоидами и ядерным веществом (нуклеоидом).

Дополнительными структурными образованиями являются капсулы, споры, жгутики, пили.

Оболочка микробной клетки состоит из наружного слизистого слоя, клеточной стенки и цитоплазматической мембраны.

Слизистый слой находится снаружи и выполняет защитную функцию.

Клеточная стенка сохраняет форму клетки и отделяет ее от окружающей среды, сохраняет внутри клетки постоянное осмотическое давление.

В зависимости от содержания муреина в клеточной стенке различают грамположительные и грамотрицательные бактерии (по отношению к окраске по Грамму).

Цитоплазматическая мембрана плотно прилегает к клеточной стенке с внутренней стороны. Очень тонкий полупроницаемый слой, через который осуществляется питание клетки. На мембране находятся ферменты, участвующие в процессах переноса питательных веществ, в дыхании, в делении клетки.

Цитоплазма – внутреннее содержимое бактериальной клетки, представляет собой коллоидную систему, состоящую из воды, белков, углеводов, липидов, различных минеральных солей.

Нуклеоид (ядерное вещество клетки) - наследственный аппарат. Ядерное вещество прокариотов, в отличие от эукариотов, не имеет собственной мембраны и представляет собой двойную нить ДНК, свернутую в кольцо.

Рибосомы находятся в цитоплазме и выполняют функцию синтеза белка. Количество рибосом в клетке достигает количества 10–1000. Соединяясь вместе, рибосомы образует полисомы.

Лизосомы – образования, в которых происходит расщепление питательных веществ.

Включение гранулы, содержащие различные запасные питательные вещества: крахмал, гликоген, жир, волютин.

Дополнительные органоиды:

Капсула – внешний, уплотненный, слизистый слой, примыкающий к клеточной стенке. Это защитный орган, который появляется у бактерий при попадании их в организм человека и животных. Капсула предохраняет микроорганизмы от защитных факторов макроорганизма. Некоторые микробы имеют постоянную капсулу (клепсиеллы).

Споры - уплотненный участок цитоплазмы с нуклеоидом, одетый собственной плотной оболочкой. Образуются при попадании микробов в неблагоприятные условия внешней среды (действие высоких температур, высушивание, изменение pH, уменьшение количества питательных веществ и т.п.). Споры встречаются только у палочковидных бактерий.

При попадании микроорганизмов в благоприятные условия спора в течение 4–5 часов прорастает в вегетативную форму.

Споры очень устойчивы, могут сохраняться десятилетиями.

Спорообразующие аэробные бактерии называются бациллами, а анаэробные – клостридиями.

Жгутики – органы движения, характерные для палочковидных бактерий.

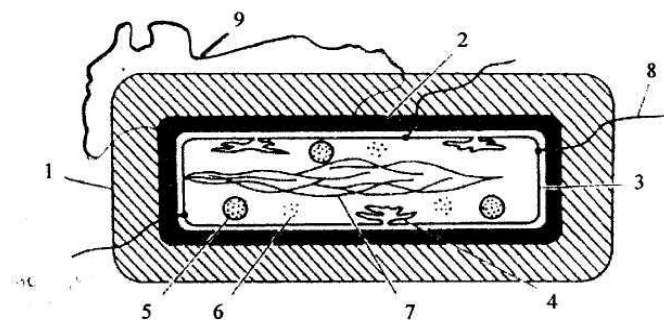
По расположению жгутиков бактерии делятся на группы:

- монотрихи - с одним жгутиком (возбудитель холеры);
- амфитрихи - с пучками или единичными жгутиками на обоих концах клетки (спириллы);
- лофотрихи – с пучком жгутиков на одном конце клетки (фекальный щелочеобразователь);
- перитрихи – жгутики расположены по всей поверхности клетки (кишечные бактерии).

Скорость движения бактерий зависит от количества и расположения жгутиков, от возраста бактерий и влияния окружающих факторов (наиболее подвижны монотрихи).

Пили – ворсинки, расположенные на поверхности бактериальных клеток. Они короче и тоньше жгутиков, имеют спиральную структуру. Пили служат для прикрепления бактерий к клеткам животных и человека, иногда для передачи генетического материала из клетки в клетку.

УЛЬТРАСТРУКТУРА БАКТЕРИАЛЬНОЙ КЛЕТКИ



1 – капсула, 2 – клеточная стенка, 3 – цитоплазматическая мембрана, 4 - мезосомы, 5 – включения, 6 – гранулы рибосом, 7 – нуклеотид (ДНК), 8- жгутик, 9 – пили (ворсинки)

III. Физиология бактерий

Физиология изучает жизненные функции микробов: питание, дыхание, рост и размножение. В основе физиологических функций лежит непрерывный обмен веществ (метаболизм). Особенностью микроорганизмов является интенсивный обмен веществ.

Химический состав бактерий.

Микроорганизмы содержат те же химические вещества, что и клетки всех живых организмов: воду (75–85%), сухое вещество (15–25%), которое состоит из органических и минеральных соединений.

Вода.

Белки (50–80% сухого вещества),

Нуклеиновые кислоты (10–30% сухого вещества).

Углеводы (12–18% сухого вещества).

Липиды (0,2–40% сухого вещества).

Минеральные вещества (2–14% сухого вещества).

Питание бактерий.

Процесс питания микроорганизмов имеет ряд особенностей:

- поступление питательных веществ происходит через всю поверхность клетки;
- микробной клетке свойственна исключительная быстрота обменных реакций;
- микробы способны быстро адаптироваться к изменяющимся условиям среды обитания и менять тип питания.

Типы питания определяются по характеру усвоения углерода и азота. Источником водорода и кислорода служит вода и кислород воздуха.

По усвоению углерода микробов делят на два типа: **автотрофы и гетеротрофы**.

Автотрофы способны синтезировать сложные органические вещества из простых неорганических соединений (фотосинтез). Автотрофами являются почвенные бактерии.

Гетеротрофы для своего роста и развития нуждаются в готовых органических соединениях и могут усваивать углерод из углеводов, спиртов, органических кислот и т.п.

Гетеротрофы подразделяются на сапрофитов и паразитов.

Сапрофиты получают готовые органические соединения от умерших организмов. Это бактерии гниения.

Паразиты живут и размножаются за счет органических веществ живой клетки растений, животных или человека. К таким микробам относятся вирусы, риккетсии, большинство бактерий.

Резкой границы между типами питания микробов нет. Они могут переходить от гетеротрофного типа питания к автотрофному и наоборот.

Ферменты и их роль в обмене веществ.

Ферменты – это вещества белковой природы, вырабатываемые живой клеткой. Они являются биологическими катализаторами. Микроорганизмы могут синтезировать самые разнообразные ферменты.

Ферменты микробов делят на *экзоферменты и эндоферменты*.

Экзоферменты, выделяясь во внешнюю среду, расщепляют макромолекулы питательных веществ до более простых соединений, которые могут быть усвоены микробной клеткой.

Эндоферменты участвуют в реакциях обмена веществ, происходящих внутри клетки.

Кроме того, патогенные бактерии вырабатывают также ферменты агрессии, которые служат для преодоления естественных защитных барьеров макроорганизма и являются факторами патогенности.

Ферментный состав любого микроба является достаточно постоянным признаком, а различные виды микробов четко различаются по набору ферментов. Поэтому изучение ферментативного состава имеет значение для идентификации вида микроорганизма.

Дыхание бактерий

Дыхание (биологическое окисление) микроорганизмов представляет собой совокупность биохимических процессов, в результате которых освобождается энергия, необходимая для жизнедеятельности микробных клеток.

По типу дыхания все микробы разделяются на:

- облигатные (строгие) аэробы,
- облигатные анаэробы
- факультативные (необязательные) анаэробы.

Облигатные аэробы живут и развиваются при свободном доступе кислорода, т.е. реакции окисления осуществляются у них при участии молекулярного кислорода с высвобождением большого количества энергии (туберкулезная палочка).

Облигатные анаэробы способны жить и размножаться только в отсутствии свободного кислорода воздуха. Наличие свободного кислорода для облигатных анаэробов является губительным (возбудители столбняка, газовой гангрены, ботулизма).

Факультативные анаэробы могут жить и размножаться как при наличии молекулярного кислорода, так и при его отсутствии. К этому типу относят большинство патогенных и сапрофитных бактерий.

Рост и размножение бактерий

Под размножением понимают способность микроорганизмов к самовоспроизведению, в результате чего увеличивается число особей в популяции (колонии).

Колония микроорганизмов – это скопление микробов одного вида.

Основной способ размножения у бактерий – *поперечное деление*. Перед делением у бактериальных клеток происходит удвоение молекул ДНК. Каждая дочерняя клетка получает копию материнской ДНК, а цитоплазма делится перегородкой.

Деление кокков может происходить в различных плоскостях, с образованием разнообразных сочетаний клеток: цепочек стрептококков, гроздьев стафилококков, тюков сарцин.

Палочковидные и извитые формы делятся поперечно и только в одной плоскости.

У некоторых бактерий размножение происходит путем образования почки – *почкованием*. Так размножаются клубеньковые бактерии, возбудитель туберкулеза.

Для некоторых видов микроорганизмов характерен *процесс конъюгации* – это прообраз полового размножения. Две бактерии подходят друг к другу и соединяются пиллями. Через пили бактерии обмениваются частью генетического материала (одна особь – донор, другая – реципиент). С точки зрения эволюции это прогрессивный процесс, так как происходит формирование новых подвидов и даже видов.

У большинства бактерий каждая клетка делится один раз в течение 15-30 минут, но есть медленно делящиеся виды. Так туберкулезная палочка делится один раз в сутки.

Скорость размножения зависит от возраста микробной культуры, от температуры, значения pH и других факторов.

IV. Генетика микроорганизмов

Мутанты – это организмы, у которых возникли новые видовые признаки. Если мутация не дает микробам преимуществ, в сравнении с другими микробными клетками, то микробы погибают, а мутация глохнет (исчезает). Мутациям подвержены и вирусы.

Генетические рекомбинации:

Трансдукция - это перенос генетической информации (ДНК) от бактерии донора к бактерии реципиенту при участии бактериофага. Такими свойствами обладают умеренные фаги. Размножаясь в бактериальной клетке, фаги включают в состав своей ДНК часть бактериальной ДНК и передают её реципиенту.

Так может быть передана способность образовывать токсины, споры, жгутики, способность продуцировать дополнительные ферменты, устойчивость к лекарствам, патогенность.

Трансформация – это передача участка ДНК из одной клетки в другую без непосредственного контакта. При этом бактерия реципиент захватывает чаще самопроизвольно из внешней среды (с питательной среды) фрагмент чужеродной ДНК.

Конъюгация – это передача генетического материала от одной бактерии к другой при непосредственном контакте клеток. Две микробные клетки подходят друг к другу, соединяются пилиями (sex - pili) и через образовавшийся мостик передают генетический материал. Этот процесс односторонний – от клетки донора (мужской тип) к клетке реципиенту (женский тип).

Конъюгация может быть между бактериями одного вида и между бактериями разных видов.

Биотехнология – область знаний об использовании биообъектов (бактерий, вирусов, грибов, растительных и животных клеток) для получения необходимых, ценных для человека продуктов, ранее не встречавшихся в природе.

Медицинская биотехнология создает диагностические, профилактические и лекарственные препараты, получает материалы восполняющие дефекты в работе отдельных органов и тканей человека.

Получение таких веществ из микробной клетки гораздо проще и выгодней. Поэтому в биотехнологии разрабатываются и используются рекомбинантные штаммы бактерий, способные синтезировать гормоны, ферменты человека, иммуномодуляторы, антигены (вакцины) и другие биологически активные вещества.

Генная инженерия – наука, занимающаяся созданием организмов с новыми свойствами.

Методы генной инженерии позволяют изменять структуру генов и включать в хромосому бактерий гены других организмов, ответственных за синтез важных и нужных веществ. В результате микроорганизмы становятся продуцентами таких веществ, получение которых сложно или невозможно.

Таким путем сейчас получают инсулин, интерферон, гормон роста человека и др.

В результате генных мутаций созданы мутанты-продуценты антибиотиков, которые в 100-1000 раз активнее исходных.

V. Понятие о вирусах, их классификация

Вирусы – это *неклеточная форма* существования живой материи.

Открыл вирусы в 1892 году русский ботаник *Д.И. Ивановский*. Он изучал болезнь листьев табака и установил, что ее вызывают очень мелкие возбудители, которые проходят через фильтры для бактерий. Ивановский назвал этих возбудителей – фильтрующиеся вирусы. *Virus* – яд (латинский язык).

Вирус не является клеткой, т.к. отсутствует цитоплазма с органоидами, не происходит синтез белка, отсутствует обмен веществ. Они являются обязательными внутриклеточными паразитами.

Вирусы могут паразитировать в клетках человека, животных, растений, насекомых, бактерий, вызывая их болезни.

Размеры вирусов очень малы, они измеряются в НМ, если образно представить бактерию слоном – то вирус это мышь.

Внутри вируса находится нуклеиновая кислота ДНК или РНК. По этому признаку все вирусы делят на *ДНК- вирусы* и *РНК- вирусы*.

Пример: РНК - вирусы ортомиксовирусы (грипп), рабдовирусы (бешенство); ДНК - вирусы аденовирусы (ОРВИ), герпесвирусы (герпес, ветряная оспа).

Строение вирусов

Сформированная вирусная частица называется **вирион**.

Вирусы делят на просто и сложно устроенные. У просто устроенных вирусов нуклеиновая кислота связана с белковой оболочкой – **капсидом**, который состоит из структурных единиц – **капсомеров**. У некоторых видов вирусов капсомеры имеют форму шипов и торчат во все стороны. Нуклеиновая кислота и капсид называются **нуклеокапсидом**.

У сложно организованных вирусов **капсид** окружен дополнительной оболочкой – **суперкапсидом** или **непелосом**.

Вирусы имеют различные типы симметрии: *спиральный, кубический, сферический, ромбический*; могут быть палочковидными, пулевидными и др.

Взаимодействие вируса с клеткой хозяина

Взаимодействие идет в единой биологической системе на генетическом уровне.

Существует четыре типа взаимодействия:

1 **продуктивная** вирусная инфекция (взаимодействие, в результате которого происходит репродукция вируса, а клетки погибают);

2 **абортивная** вирусная инфекция (взаимодействие, при котором репродукции вируса не происходит, а клетка восстанавливает нарушенную функцию);

3 **латентная** вирусная инфекция (идет репродукция вируса, а клетка сохраняет свою функциональную активность);

4 **вирус-индуцированная трансформация** (взаимодействие, при котором клетка, инфицированная вирусом, приобретает новые, ранее не присущие ей свойства).

Жизненный цикл вируса:

1. **Адсорбция** вируса на поверхности клетки-хозяина. Осуществляется за счет капсомеров - шипов.

2. **Проникновение** вируса в клетку-хозяина. Осуществляется двумя способами: растворение белками - ферментами оболочки клетки-хозяина или прокалывание оболочки клетки - хозяина отростками вируса.

3. **«Раздевание»** вируса внутри клетки - хозяина. Нуклеиновая кислота освобождается от капсида и вирусных белков.

4. Множественная **репликация** (воспроизведение) нуклеиновой кислоты и синтез вирусных белков за счет содержимого клетки - хозяина.

5. **Сборка** вирионов в цитоплазме клетки - хозяина (от 20 до 200 штук).

6. **Выход** вирионов из клетки - хозяина осуществляется 2 способами: проходят через отверстие сделанное отростками или разрывают оболочку клетки - хозяина по типу взрыва и разлетаются во все стороны, при этом клетка обязательно погибает.

В лабораториях вирусы выращивают в культуре живых клеток, чаще в живых куриных эмбрионах. На питательных средах они не растут.

VI. Бактериофаги, их свойства

Бактериофаги – вирусы, паразитирующие внутри бактерий и вызывающие их гибель (лизис). *Фаги – пожиратели*.

Жизненный цикл бактериофагов типичен для вирусов, строение фагов имеет свои особенности.

Фаг состоит из *головки, отростка и хвоста*. В головке находится ДНК или РНК, отросток покрыт сократительным чехлом, хвост – это белковые нити.

Фаги *распространены* в природе, они есть в воде, в почве, в кишечнике человека и животных.

Источником фагов патогенных микробов являются *больные люди и животные, бактерионосители*. Они выделяются с содержимым кишечника, с мочой, обнаруживаются в мокроте, слюне, гное, носовом секрете, особенно в период выздоровления.

Во внешней среде фаги более устойчивы, чем бактерии. Они устойчивы к действию радиации, к действию многих химических веществ, к давлению, к длительному хранению, к изменению pH среды (от 2 до 8,6), к действию антибиотиков (как и все вирусы). Неустойчивы бактериофаги к действию температуры (до 75С), к действию УФ-лучей.

Фаги обладают *строгой специфичностью*, т.е. они способны паразитировать в только определенном виде микроорганизмов. Так имеется стрептококковый фаг, стафилококковый фаг и другие.

По механизму действия фаги делятся на *вирулентные и умеренные*.

- **вирулентные** фаги полностью лизируют (*уничтожают*) бактерию, в которую они внедрились,
- **умеренные** встраиваются в ДНК бактерии, не уничтожают ее и *передаются по наследству* (лизогенизация, своего рода симбиоз).

Применение бактериофагов:

Для лечения и профилактики многих инфекционных заболеваний (дизентерии, брюшном тифе, холере, чуме, стафилококковой инфекции).

Фаги выпускаются в различных лекарственных формах: *таблетки*, свечи, растворы, стерильные растворы для инъекций.

Для диагностики инфекционных заболеваний (благодаря специфичности фагов), т.е. для определения вида микроба (*фагодиагностика*).

VII. Культивирование вирусов

Основные методы культивирования вирусов:

- *биологический* – заражение лабораторных животных. При заражении вирусом животное заболевает. Если болезнь не развивается, то патологические изменения можно обнаружить при вскрытии. У животных наблюдаются иммунологические сдвиги. Однако далеко не все вирусы можно культивировать в организме животных;
- *культивирование вирусов в развивающихся куриных эмбрионах*. Куриные эмбрионы выращивают в инкубаторе 7—10 дней, а затем используют для культивирования. В этой модели все типы зачатков тканей подвержены заражению. Но не все вирусы могут размножаться и развиваться в куриных эмбрионах.

В результате заражения могут происходить и появляться:

- гибель эмбриона;
- дефекты развития: на поверхности оболочек появляются образования – бляшки, представляющие собой скопления погибших клеток, содержащих вирионы;
- накопление вирусов в аллантоисной жидкости (обнаруживают путем титрования);
- размножение в культуре ткани (это основной метод культивирования вирусов).

О репродукции вирусов в культуре ткани судят по их цитопатическому действию, которое носит разный характер в зависимости от вида вируса.

Основные проявления цитопатического действия вирусов:

- размножение вируса может сопровождаться гибелью клеток или морфологическими изменениями в них;
- некоторые вирусы вызывают слияние клеток и образование многоядерного синцития;
- клетки могут расти, но делиться, в результате чего образуются гигантские клетки;
- в клетках появляются включения (ядерные, цитоплазматические, смешанные), включения могут окрашиваться в розовый цвет (эозинофильные включения) или в голубой (базофильные включения);
- если в культуре ткани размножаются вирусы, имеющие гемагглютинины, то в процессе размножения клетка приобретает способность адсорбировать эритроциты (гемадсорбция).

Вопросы для самоконтроля:

1. На какие три основные группы делятся бактерии по форме, и как называется каждая из этих групп?

2. Чем отличается строение нуклеоида у прокариотических бактерий от ядра эукариотических клеток согласно тексту?
3. Какую функцию выполняют экзоферменты в отличие от эндоферментов, и какую роль играют ферменты агрессии в жизнедеятельности патогенных бактерий?
4. В чем заключается принципиальное биологическое различие между автотрофами и гетеротрофами, а также между сапрофитами и паразитами внутри группы гетеротрофов?
5. Какие четыре типа генетических рекомбинаций или передачи наследственной информации описаны в тексте, и какой переносчик участвует в процессе трансдукции?
6. Почему вирусы не считаются клеточной формой жизни, где именно происходит их размножение и кто открыл эти микроорганизмы?
7. По каким двум основным признакам классифицируют вирусы в представленном тексте, и чем просто устроенные вирусы отличаются от сложно организованных?