

КАЗАНСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ



ФИЗИОЛОГИЯ БАКТЕРИЙ

Зав. кафедрой микробиологии,
д.м.н.

ИСАЕВА ГУЗЕЛЬ
ШАВХАТОВНА



ВОПРОСЫ

- Понятие о метаболизме бактерий
- Классификация бактерий по типу питания и дыхания
- Методы культивирования бактерий
- Биохимические свойства бактерий

Ситуационная задача



- Для расшифровки вспышки кишечной инфекции был проведен экспресс метод (ПЦР), с помощью которого определено наличие ДНК возбудителя бактериальной природы из рода *Salmonella* в пищевом продукте, который употребляли пострадавшие.
- Как доказать, что именно этот продукт стал причиной вспышки?
- Как доказать жизнеспособность возбудителя?
- Какой метод культивирования бактерий нужно применить и как выделить чистую культуру возбудителя?
- Как идентифицировать возбудителя и определить вид (вариант) бактерий?



Метаболизм бактерий

- Совокупность реакций, происходящих в микробной клетке при участии биологических катализаторов - ферментов

Особенности метаболизма у бактерий

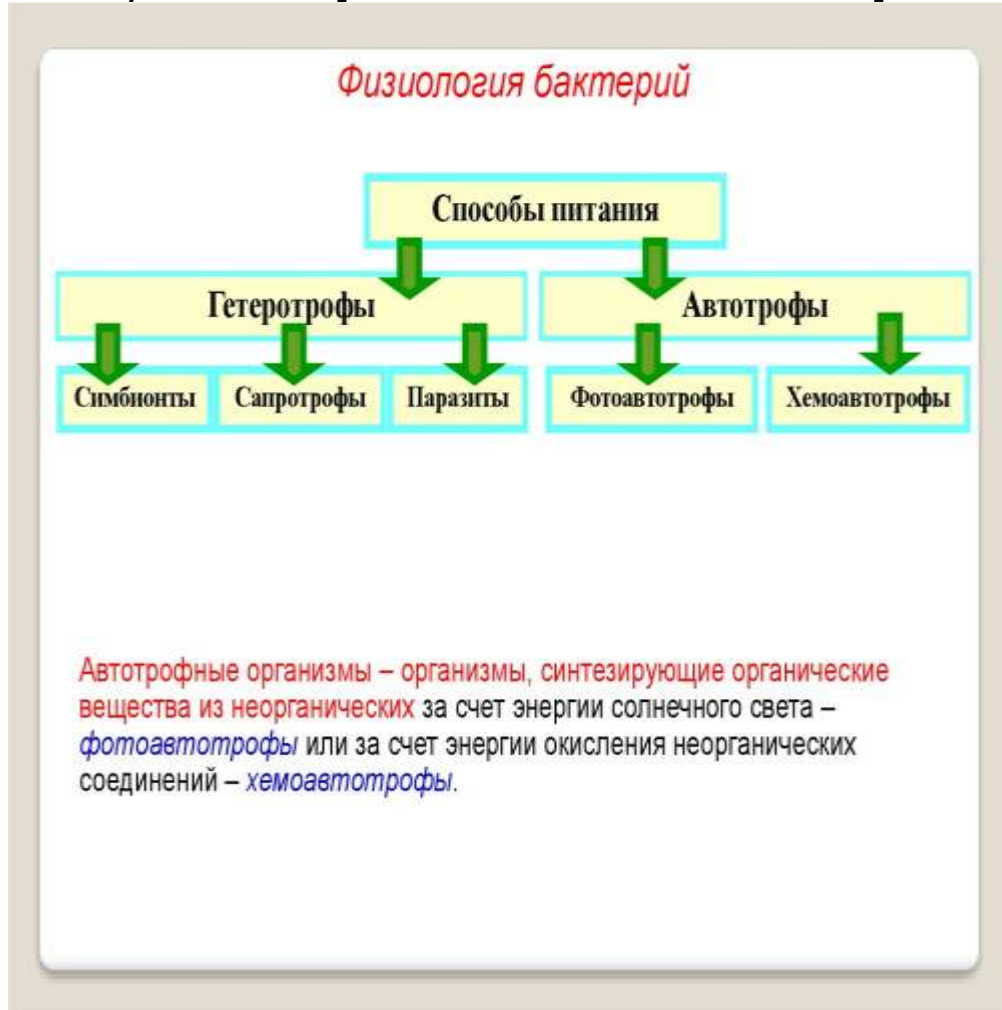
- 1) многообразие используемых субстратов;
- 2) интенсивность процессов метаболизма;
- 3) направленность всех процессов метаболизма на обеспечение процессов размножения;
- 4) преобладание процессов распада над процессами синтеза;
- 5) наличие экзо- и эндоферментов метаболизма.

Физиология бактерий

- **Физиология микроорганизмов** – раздел микробиологии, изучающий жизнедеятельность микробов, процессы их питания, обмена, дыхания, роста, размножения, закономерности взаимодействия с окружающей средой.



В зависимости от источника получения углерода бактерии делят на:



1) аутоотрофы - используют неорганические вещества – H_2O и CO_2 (нитрифицирующие бактерии);

2) гетеротрофы – нуждаются в готовых органических веществах (большинство патогенных бактерий)

Гетеротрофы подразделяют:

Сапрофиты (sapro- гнилой, phyton – растение) – независимы от других организмов

Паразиты – (parasitos- нахлебник) – зависимы от макроорганизма . Различают облигатные (размножаются только в живой клетке) и факультативные.



В зависимости от источника азота бактерии делятся на:

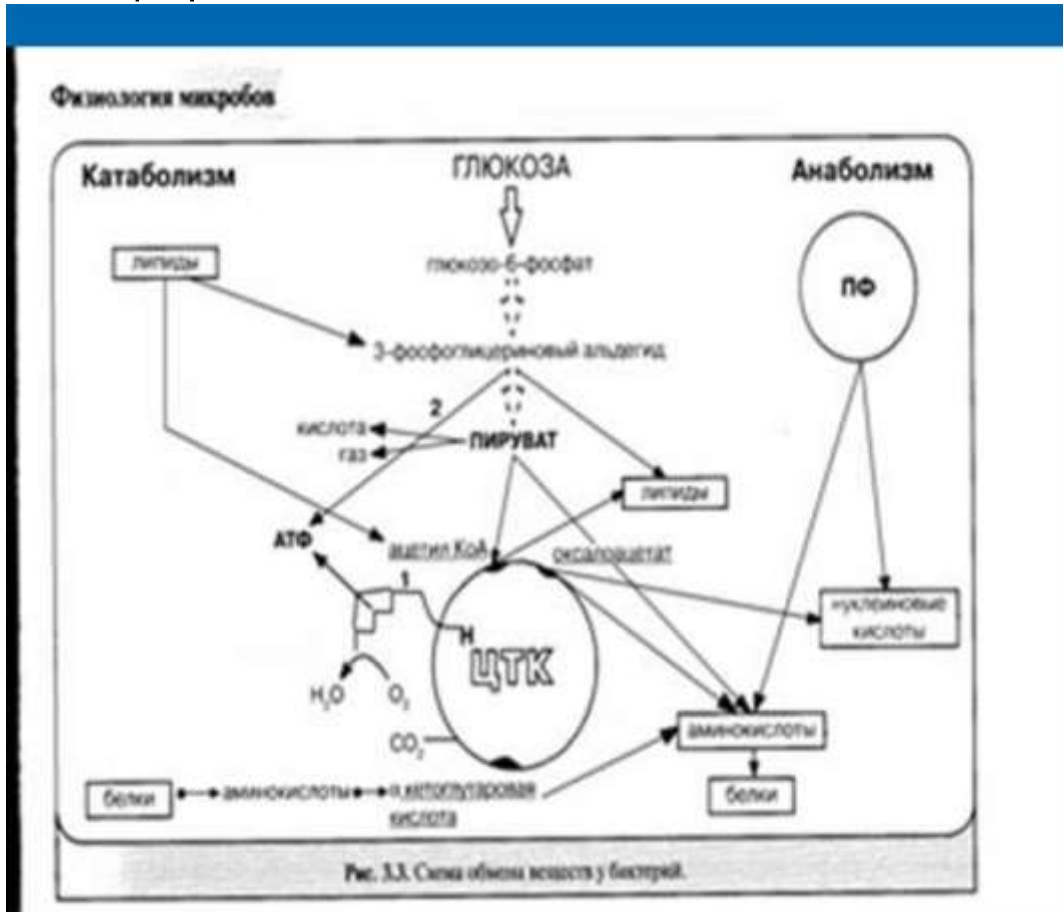
- 1) прототрофы (способны сами синтезировать необходимые вещества из низкоорганизованных);
- 2) ауксотрофы (являются мутантами прототрофов, потерявшими гены ответственные за синтез некоторых веществ – витаминов, аминокислот, поэтому нуждаются в этих веществах в готовом виде).



По источникам получения энергии микроорганизмы делят на:

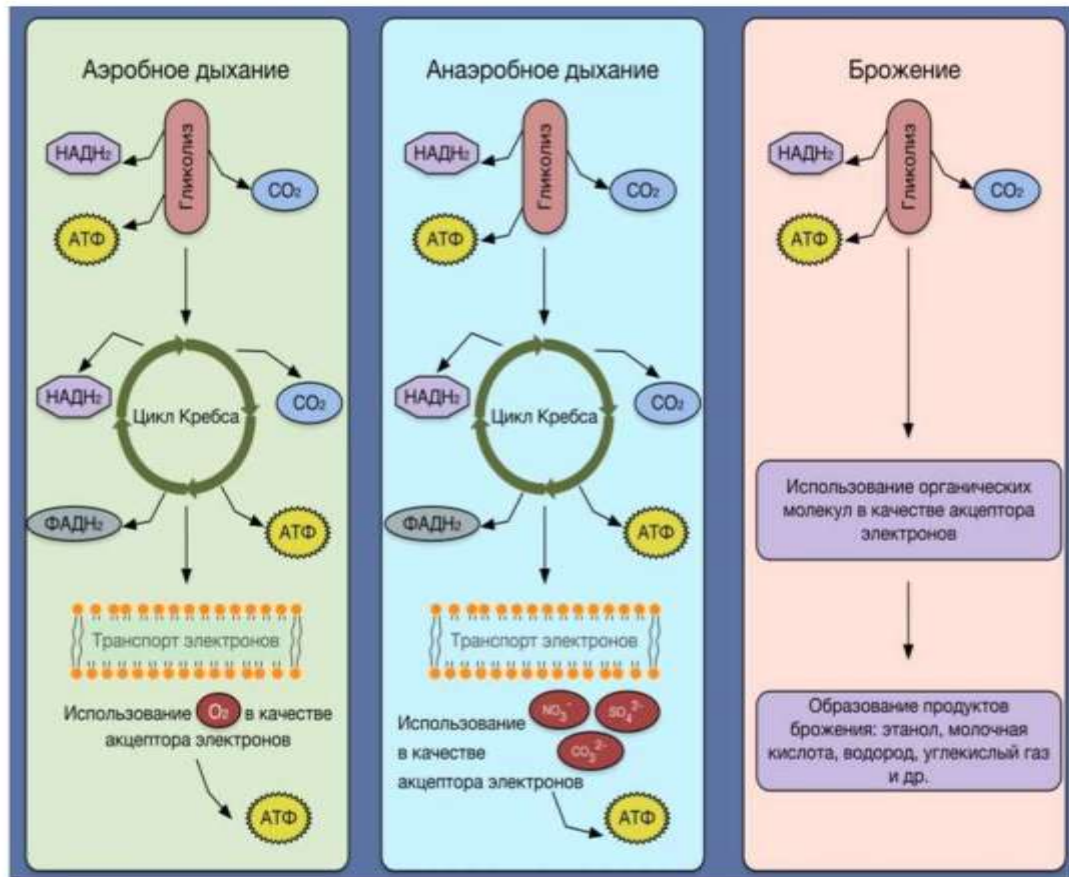
- 1) фототрофы (способны использовать солнечную энергию);
- 2) хемотрофы (получают энергию за счет окислительно-восстановительных реакций):
 - Хемолитотрофы – неорганических соединений
 - Хемоорганотрофы – органических соединений

В процессе метаболизма выделяют два вида обмена:



- 1) пластический (конструктивный):
 - а) анаболизм (с затратами энергии);
 - б) катаболизм (с выделением энергии);
- 2) энергетический обмен (протекает в дыхательных мезосомах):
 - а) дыхание;
 - б) брожение.

Пути получения энергии



- 1. фотосинтез – бактерии используют энергию Солнца, содержат аналоги хлорофилла – пигменты (цианобактерии)
- 2. дыхание (окислительное фосфорилирование)
- 3. брожение (субстратное фосфорилирование)

Окислительный метаболизм бактерий

Дыхательная цепь у бактерий локализована в цитоплазматической мембране и может иметь вариации в составе переносчиков (например, убихиноны или нафтохиноны, разные типы цитохромов).

- Конечный продукт — вода и углекислый газ.
- Эффективность — окислительный метаболизм даёт значительно больше АТФ, чем брожение.

- Окислительный метаболизм — это способ получения энергии бактериями за счёт дыхания, то есть окисления органических или неорганических соединений с участием кислорода как конечного акцептора электронов. Этот процесс сопровождается выделением энергии, которая запасается в виде молекул АТФ.



Основные этапы окислительного метаболизма

Этап	Описание
1. Окисление субстрата	Органические (глюкоза, аминокислоты и др.) или неорганические вещества окисляются, отдавая электроны и протоны.
2. Перенос электронов	Электроны передаются по цепи переносчиков (НАД, флавопротеины, хиноны, цитохромы), встроенных в цитоплазматическую мембрану.
3. Восстановление кислорода	Конечным акцептором электронов служит молекулярный кислород, который восстанавливается до воды.
4. Синтез АТФ	Энергия, высвобождающаяся при переносе электронов, используется для создания протонного градиента, за счёт которого синтезируется АТФ



Бродильный метаболизм бактерий

- Разновидность анаэробного дыхания, при котором акцептором и донором водорода является органическое вещество. При поступлении глюкозы происходит гликолиз и образуется пировиноградная кислота. Дальнейшее ее превращение определяется набором ферментов
- Бродильный метаболизм (или ферментация) — это способ получения энергии бактериями в условиях отсутствия кислорода. В этом процессе органические соединения (чаще всего углеводы) расщепляются до промежуточных продуктов, а электроны и протоны переносятся на органические молекулы, синтезированные самой клеткой. В результате образуются различные органические кислоты, спирты, газы и другие продукты.



Основные типы брожения у микроорганизмов

Тип брожения	Основные продукты	Примеры бактерий и грибов
Молочнокислое	Молочная кислота	Lactobacillus, Streptococcus
Спиртовое	Этанол, CO ₂	Сахаромицеты
Муравьинокислое (смешанное)	Муравьиная кислота, CO ₂ , H ₂	Escherichia coli, Salmonella
Маслянокислое	Масляная кислота, бутанол, ацетон	Clostridium

Маслянокислое брожение

- Маслянокислое брожение это анаэробный метаболический процесс, при котором некоторые бактерии, в основном из рода *Clostridium*, превращают углеводы и другие органические вещества в масляную кислоту (бутират), а также в бутанол, ацетон, изопропанол, уксусную кислоту, углекислый газ и водород. Этот процесс имеет важное значение как в природе, так и в промышленности.
- Продукты брожения:
 - - Масляная кислота (бутират).
 - - Бутанол.
 - - Ацетон.
 - - Изопропанол.
 - - Уксусная кислота.
 - - Углекислый газ (CO_2).
 - - Водород (H_2).

Маслянокислое брожение

- Маслянокислое брожение — это важный процесс, который не только способствует разложению органических веществ в природе, но и находит применение в промышленности.
- Хроматография, в свою очередь, играет ключевую роль в анализе и идентификации продуктов этого брожения, что делает её незаменимым инструментом в микробиологических исследованиях
- Хроматография — это метод, используемый для разделения и анализа смесей веществ. В контексте маслянокислого брожения газожидкостная хроматография (ГЖХ) применяется для:
 - Идентификации продуктов брожения:
 - Хроматография позволяет быстро и точно определить состав продуктов, образующихся в результате брожения, таких как масляная кислота и другие органические кислоты.
 - Экспресс-метода идентификации анаэробов:
 - Спектр органических кислот, определяемый с помощью хроматографии, служит важным критерием для идентификации бактерий, участвующих в маслянокислом брожении.

Ферментация белков у бактерий

- Ферментация белков — это процесс, при котором бактерии используют белки в качестве источника энергии и углерода, расщепляя их до аминокислот и далее до более простых соединений. Этот процесс особенно характерен для некоторых анаэробных бактерий, таких как клостридии.
- Продукты ферментации белков
- Аммиак — результат дезаминирования аминокислот.
- - Сероводород (H_2S) — образуется при разложении серосодержащих аминокислот.
- - Жирные кислоты — могут быть использованы в дальнейшем метаболизме.
- - Кетоны и альдегиды — образуются в результате декарбоксилирования аминокислот.

Биологически активные метаболиты, вырабатываемые кишечной микробиотой



Дыхание бактерий

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:



- 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

- Совокупность биологических процессов, сопровождающихся образованием энергии, необходимой для жизнеобеспечения клетки

Классификация бактерий по типу дыхания

Классификация бактерий по отношению к кислороду



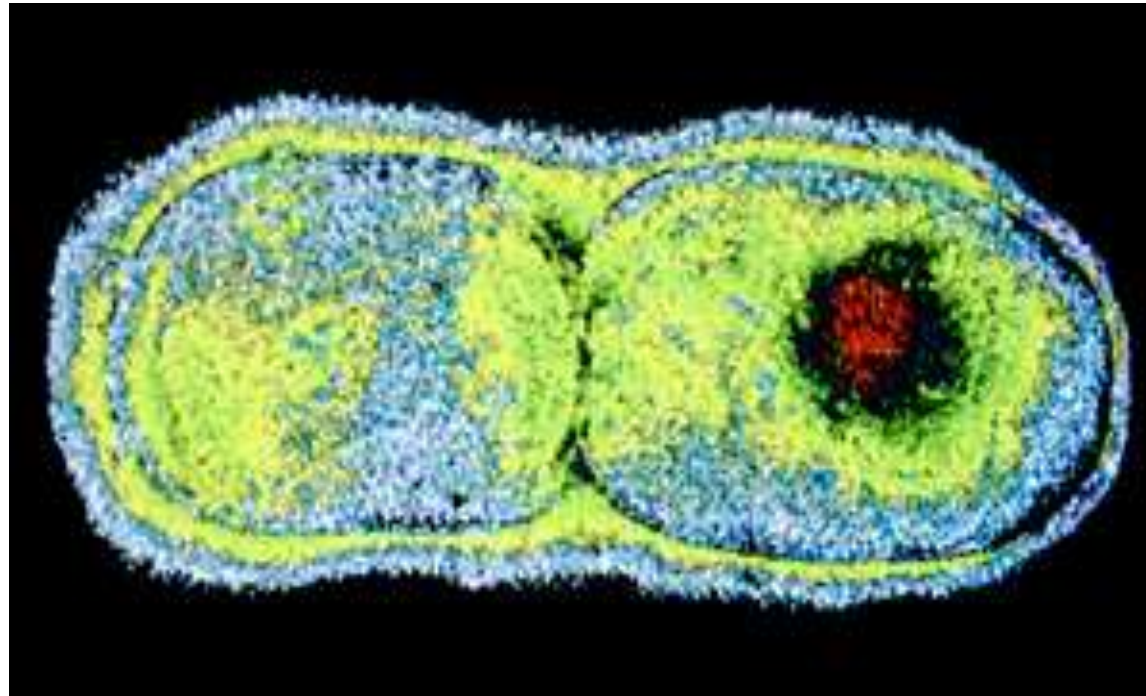


Рост и размножение бактерий

- РОСТ - увеличение бактериальной клетки в размерах без увеличения числа особей в популяции.
- РАЗМНОЖЕНИЕ - процесс, обеспечивающий увеличение числа особей в популяции. Размножение бактерий определяется временем генерации. Это период, в течение которого осуществляется деление клетки. Продолжительность генерации зависит от вида бактерий, возраста, состава питательной среды, температуры и др.

Бактерии размножаются поперечным делением.

Вначале внутреннее содержимое клетки делится пополам,
затем образуется поперечная мембранная перегородка,
синтезируется клеточная стенка, завершающая деление



Фазы размножения бактериальной популяции

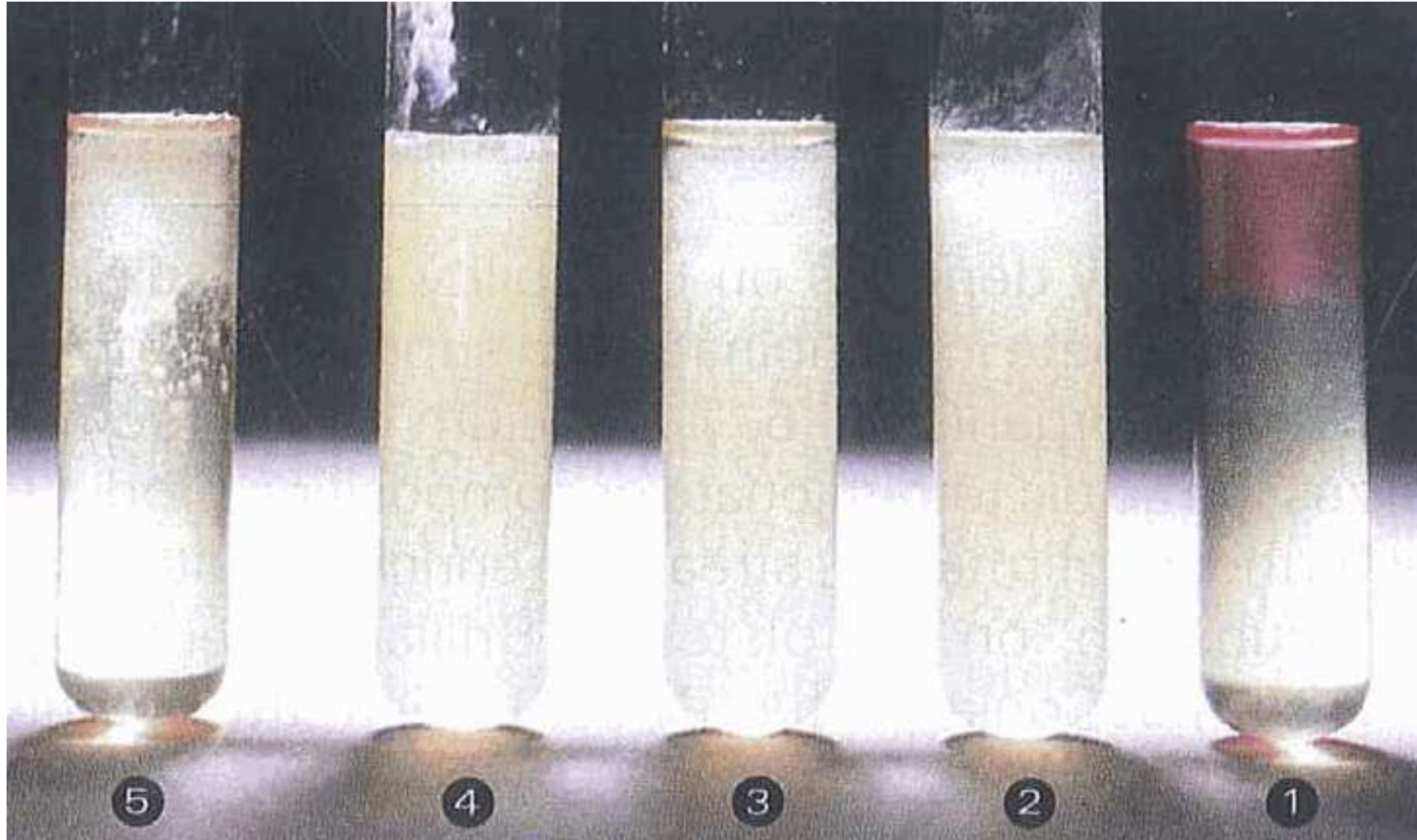




Условия культивирования бактерий

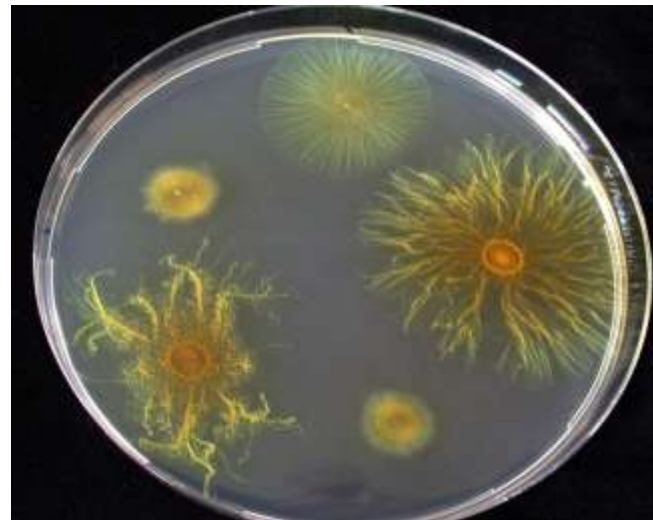
- Наличие питательной среды
- Температура культивирования (мезофилы – 20-40 °С, термофилы 40-60°, психрофилы 0-20°)
- Атмосфера культивирования
- Время культивирования (от 6-8 часов (холерный вибрион) до 3-4 недель (возбудитель туберкулеза))

Характер роста на жидких средах



Характер роста на плотных средах

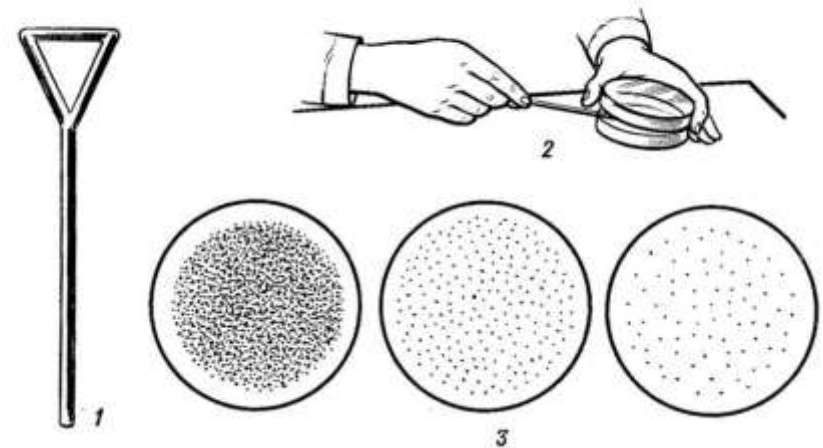
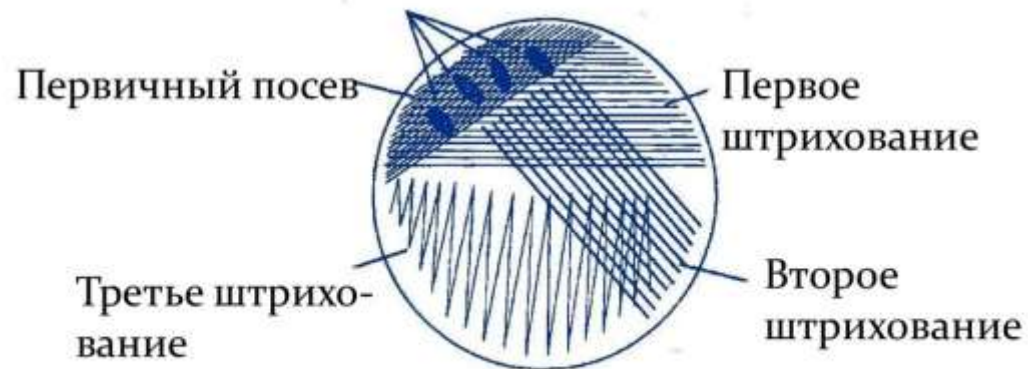
- Колония бактерий – скопление бактерий одного вида на плотной питательной среде, образующееся в результате деления одной материнской клетки. Формы колоний:
- S (smooth) – гладкие, выпуклые с ровными краями
- R (rough) – шероховатые с неровными краями



Методика посева по методу Дригальского

Методика посева на чашку Петри

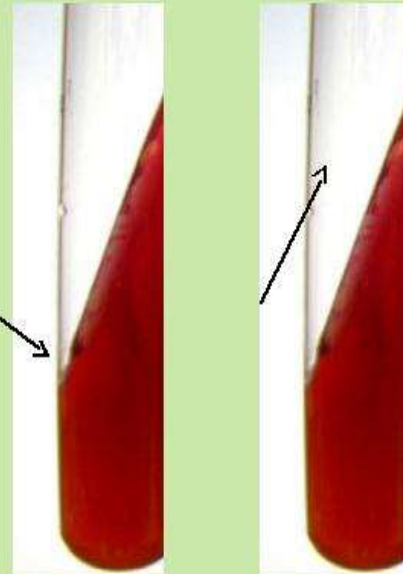
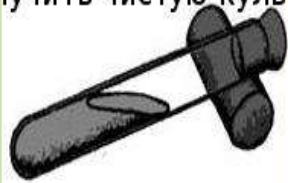
тампоны



- Посев культуры микроорганизмов на поверхность плотной питательной среды шпателем
1. шпатель Дригальского
 2. посев
 3. рост микроорганизмов после посева

Посев на скошенный агар, метод Шукевича

- Посев на скошенный агар применяют для накопления и хранения чистой культуры бактерий
- Метод Шукевича - применяется для получения чистой культуры протей и других микроорганизмов обладающих «ползущим» ростом. Посев исследуемого материала производят в конденсационную воду у основания скошенного агара. Подвижные микроорганизмы (протей) способны подниматься вверх по скошенному агару, неподвижные формы остаются расти внизу на месте посева. Пересеивая верхние края культуры можно получить чистую культуру.



Место посева культуры по Шукевичу

Посев однократным штрихом

32

Рост протей (посев по Шукевичу)



Методы автоматизированного посева

- Автоматизированный посев с использованием специальных приборов позволяет производить посевы для выделения микроорганизмов без ручного разведения пробы
- Образец наносится на чашку Петри по спирали с уменьшением объема пробы от краев чашки к центру
- Применяется при необходимости подсчета колоний, при этом не нужно считать все колонии на чашке

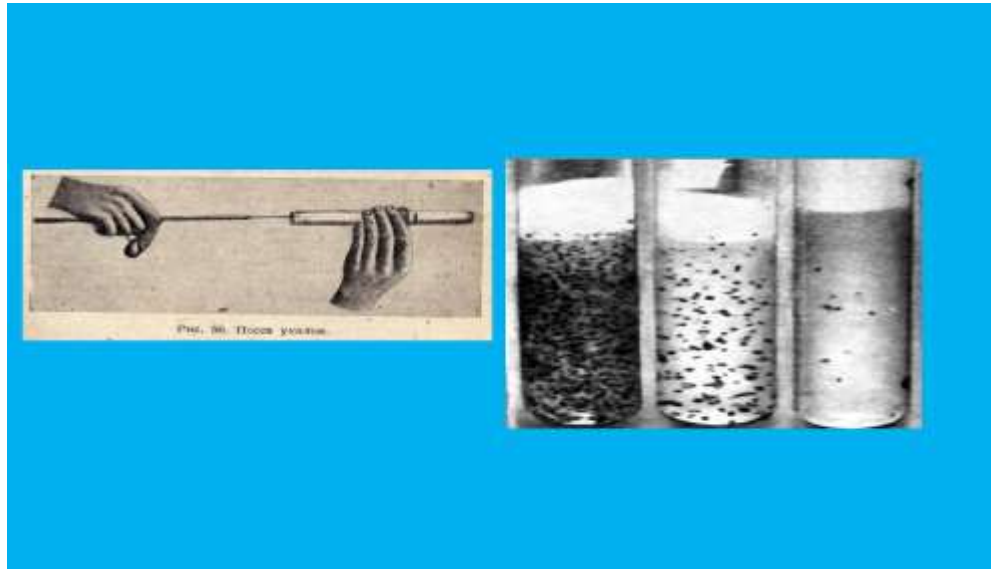


Методы автоматизированного посева



Методы культивирования анаэробов

- 1. физические методы:
- Удаление воздуха из герметических сосудов (анаэроостаты) и заменой на бескислородные смеси
- Посев в высокий столбик агара



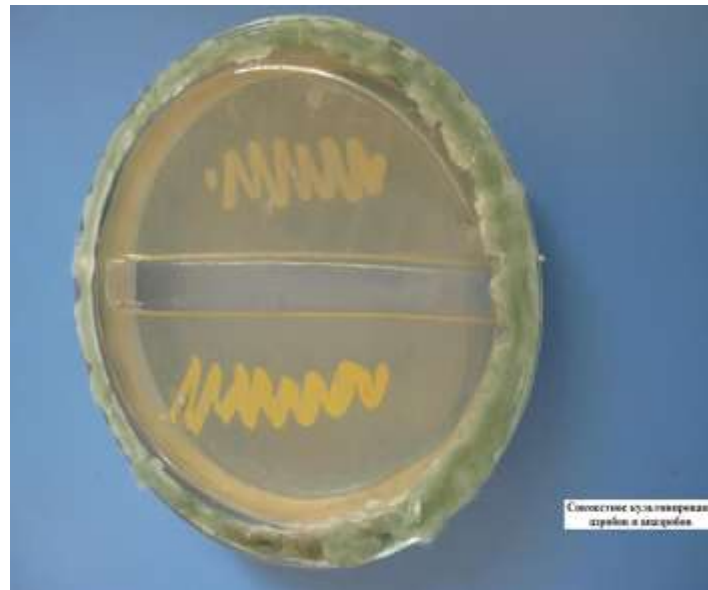
2. Химические методы

1. Поглощение кислорода в замкнутой воздушной среде химическими веществами (пиррогалол)
2. Применение газогенерирующих пакетов в замкнутой воздушной среде (эксикатор, газонепроницаемые пластиковые пакеты)



3. Биологические методы

1. Совместное культивирование аэробов и анаэробов (метод Фортнера)
2. Культивирование на тканевых питательных средах (Китта-Тароцци) с заливкой слоем парафина или вазелина



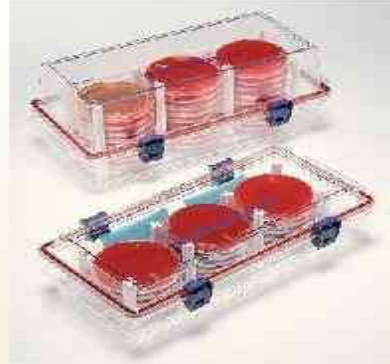


Методы культивирования микроаэрофилов и капнофилов

Создание анаэробных условий.



- Зажженная свеча в закрытой емкости снижает количество кислорода
- Повышенное содержание CO₂ стимулирует размножение капнофилов (нейссерии)



- Контейнеры для инкубирования в анаэробных условиях



- Индикатор «анаэробности»

- Газо-генерирующие системы



CO₂ инкубатор



Автоматические системы культивирования анаэробов (ANOХОМАТ)



- Возможность создания анаэробной атмосферы (10% CO₂, 80% N₂, 10% H₂)
- Возможность создания микроаэрофильной атмосферы (6% O₂, 7,1%CO₂, 7,1 H₂, 79,8%N₂)
- Возможность создания капнофильных условий (10-12% CO₂)
- Возможность создания собственных параметров атмосферы культивирования

Автоматизированные системы культивирования

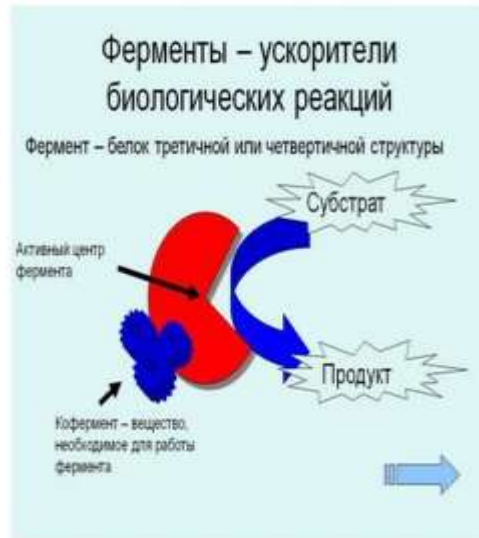
- Позволяет проводить культивирование посевов крови, других стерильных жидкостей и выделения микобактерий туберкулеза
- Принцип работы основан на изменении давления в воздушной прослойке над средой



Ферменты микроорганизмов

Ферменты микроорганизмов

- **Ферменты** – активные катализаторы, ускоряющие химические процессы в живых клетках
- Сложное строение, белковая природа
- Строго специфичны, высоко активны
- Активность зависит от факторов внешней среды
- Имеют диагностическое значение
- Экзо- и эндоферменты
- Конститутивные и индуцибельные ферменты



высокоактивные биологические молекулы, способные к многократному взаимодействию с субстратом.

Набор ферментов в клетке строго индивидуален для вида.

Способность микроорганизма утилизировать субстраты за счет своего набора ферментов определяет его биохимические свойства.

Ферменты бактерий



- По расположению:

- Экзоферменты - выделяются в окружающую среду, расщепляют макромолекулы до простых веществ

- Эндоферменты – функционируют в клетке

По длительности выделения

- 1) конститутивные ферменты (синтезируются постоянно независимо от наличия субстрата);
- 2) индуцибельные ферменты (синтезируются только в присутствии субстрата).

Биохимические свойства бактерий

Назначение ферментов обмена бактерий



- определяются составом ферментов:
- **сахаролитические** – расщепление углеводов;
- **протеолитические** – расщепление белков,
- **липолитические** – расщепление жиров,

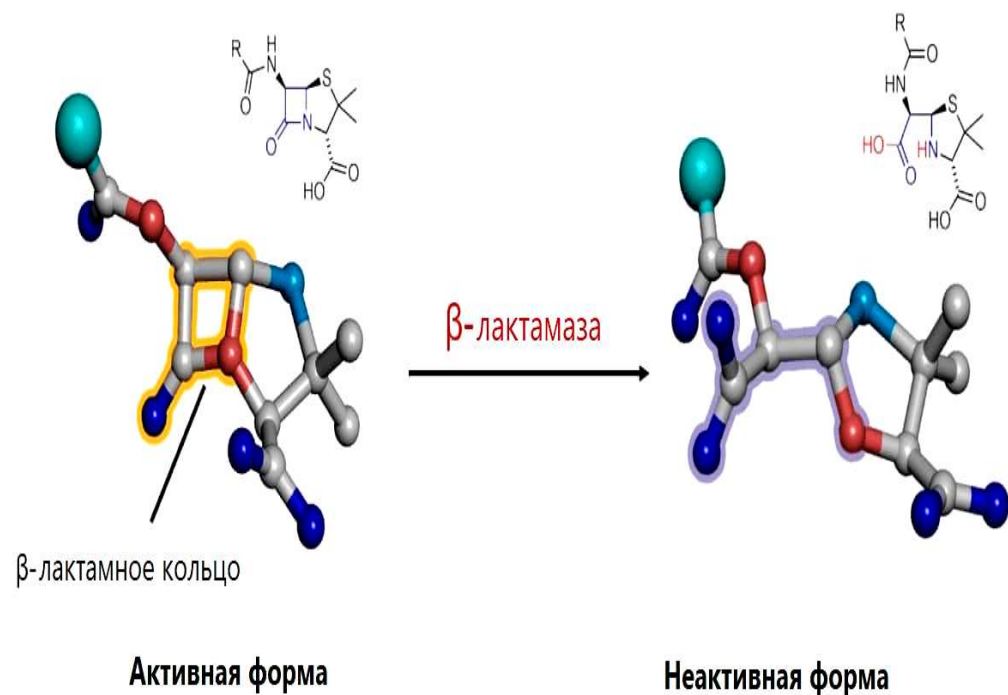
Ферменты как факторы патогенности

Ферменты агрессии патогенных бактерий



- **Факторы инвазии:** гиалуронидаза, нейраминидаза, коагулаза, фибринолизин, лецитиназа, протеаза.
а) **Факторы микроорганизма,** вызывающие первичное разрушение клеток и тканей макроорганизма ферменты агрессии, нейраминидаза, гиалуронидаза и др.
б) **Факторы микроорганизма,** вызывающие образование токсических веществ продукты гидролиза мочевины (под влиянием уреазы), продукты распада аминокислот (под влиянием декарбоксилазы)- накопление биогенных аминов.

Ферменты бактерий – инактиваторы антибиотиков



β -лактамазы

- Бактериальные ферменты, способные инактивировать β -лактамные антибиотики. По субстратной специфичности выделяют
- пенициллиназы, разрушающие пенициллины;
 - цефалоспориназы, разрушающие цефалоспорины;
 - **β -лактамазы широкого спектра действия и β -лактамазы расширенного спектра действия.**

Определение сахаролитических свойств на среде Гисса



Мультимикротесты для биохимической идентификации





Мультимикротесты



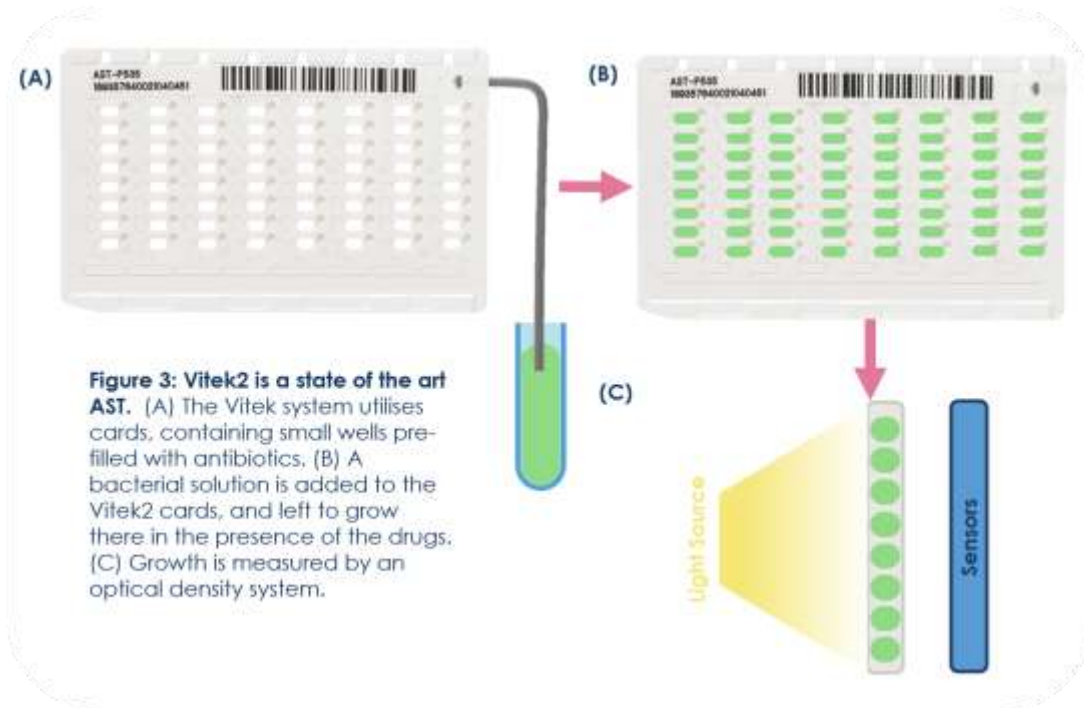
Автоматическая система идентификации бактерий

Сущность метода

- Работа в анализаторе VITEK 2 Compact проводится с чистой культурой микроорганизма.
- В качестве расходных материалов используются пластиковые карты, содержащие биохимические субстраты (ID-карты, карты для идентификации) или антибиотики в различных концентрациях (AST-карты, карты для определения чувствительности).
- Карты под вакуумом, создаваемом анализатором, в автоматическом режиме заполняются суспензией чистой культуры микроорганизмов, запаиваются и помещаются в карусель, где они инкубируются и регулярно (каждые 15 минут) сканируются оптической системой анализатора.
- Для считывания ID-карт используется колориметрия (анализатор содержит 2 оптических модуля и использует волны 660, 428 и 568 нанометров)
- для считывания AST-карт – турбидиметрия (фиксируются изменение плотности микробной суспензии под влиянием антибиотика).



Сущность метода автоматической идентификации бактерий





Пигменты бактерий

представлены различными веществами:

- каротиноидами (желтого, оранжевого цвета). Стафилококки, микобактерии
- феназиновыми производными (сине-зеленого цвета). Синегнойная палочка
- пирролами (красного цвета) *Serratia marcescens* – чудесная палочка
- меланинами (черного цвета). Бактероиды

Этот признак генетически детерминирован, поэтому его используют в качестве дифференцирующего критерия.

Пигменты обеспечивают:

- защиту от УФ радиации
- участвуют в реакциях синтеза
- обладают антибиотическим действием.





Вопросы для самоконтроля:

- 1. На какие группы делятся бактерии в зависимости от источника получения углерода?
- 2. Что означает термин «облигатные паразиты»?
- 3. На какие группы делятся бактерии по источникам энергии?
- 4. Чем характеризуются облигатные анаэробы?
- 5. От каких факторов зависит продолжительность генерации бактерий?
- 6. Перечислите фазы размножения бактериальной популяции
- 7. Что характерно для лаг-фазы бактериального роста?
- 8. Какие формы колоний различают?
- 9. Какие виды бактериальных ферментов Вы знаете?
- 10. Назовите биохимические свойства бактерий.



Литература:

ОСНОВНАЯ:

- 1. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. Том 1 : учебник / под ред. В. В. Зверева, М. Н. Бойченко. - 3-е изд., перераб. и доп. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2025. - 448 с. (Главы 8-13) - ISBN 978-5-9704-9044-0, DOI: 10.33029/9704-9044-0-MMIC-2025-1-448. - Электронная версия доступна на сайте ЭБС "Консультант студента" : [сайт]. URL: <https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970490440.html>. - Режим доступа: по подписке. - Текст: электронный
- 2. Микробиология, вирусология. Руководство к практическим занятиям : учебное пособие / под ред. В.В. Зверева, М.Н. Бойченко. - 2-е изд., перераб. и доп. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2025. - 408 с. - ISBN 9785970493687, DOI: 10.33029/9704-6711-4-MIC-2022-1-408. (Модуль 9) - Электронная версия доступна на сайте ЭБС "Консультант студента" : [сайт]. URL: <https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970493687.html> - Режим доступа: по подписке. - Текст: электронный
- Медицинская микробиология, вирусология и иммунология : в 2 т. : учебник / под ред. В. В. Зверева, М. Н. Бойченко. - 2-е изд. , перераб. и доп. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2022.
- Микробиология, вирусология. Руководство к практическим занятиям : учебное пособие / под ред. В. В. Зверева, М. Н. Бойченко. - 2-е изд., перераб. и доп. - Москва : ГЭОТАР- Медиа, 2022.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ:

Микробиология, вирусология: учеб.-метод. пособие для студентов, обучающихся по специальности 31.05.01 Лечебное дело / авт.-сост. Г.Ш.Исаева, А.Н.Савинова, Л.Т. Баязитова, С.А. Лисовская, П.Е.Гуляев, Р.И. Валиева, Н.М. Хакимов - Казань: КГМУ, 2019



Благодарю
за внимание!