

ОСНОВЫ МИКРОБИОЛОГИИ И ИММУНОЛОГИИ

**Под редакцией академика РАН В.В. Зверева,
профессора М.Н. Бойченко**

УЧЕБНИК ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ УЧИЛИЩ И КОЛЛЕДЖЕЙ

Министерство образования и науки РФ

Рекомендовано ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия
последипломного образования» Министерства здравоохранения РФ
к использованию в качестве учебника в образовательных
учреждениях, реализующих образовательную программу
СПО по специальностям 31.02.01 (060101) «Лечебное дело»
по ОП.09 «Основы микробиологии и иммунологии», 32.02.02
(060102) «Акушерское дело» по ОП.06 «Основы микробиологии
и иммунологии», 34.02.01 (060501) «Сестринское дело» по ОП.06
«Основы микробиологии и иммунологии»



Москва
ИЗДАТЕЛЬСКАЯ ГРУППА
«ГЭОТАР-Медиа»

2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

Список сокращений.....	10
Предисловие.....	13

ЧАСТЬ I. ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

Глава 1. Введение в микробиологию и иммунологию.....	17
Вопросы и задания для самоконтроля.....	20
Глава 2. Морфология и классификация микробов.....	21
2.1. Систематика и номенклатура микробов.....	21
2.2. Классификация и морфология бактерий.....	22
2.2.1. Формы бактерий.....	23
2.2.2. Структура бактериальной клетки.....	27
2.3. Строение и классификация грибов.....	33
2.4. Строение и классификация простейших.....	36
2.5. Строение и классификация вирусов.....	39
Вопросы и задания для самоконтроля.....	42
Глава 3. Организация микробиологической лабораторной службы....	43
3.1. Классификация микроорганизмов по степени их биологической опасности.....	43
3.2. Структура и оснащение микробиологических лабораторий.....	44
3.3. Правила работы в микробиологической лаборатории.....	45
3.4. Удаление лабораторных отходов.....	46
Вопросы и задания для самоконтроля.....	47
Глава 4. Физиология микроорганизмов.....	48
4.1. Особенности физиологии бактерий.....	48
4.1.1. Химический состав бактериальной клетки.....	48
4.1.2. Классификация бактерий по типам питания и способам получения энергии.....	49
4.1.3. Ферменты бактерий.....	50
4.1.4. Получение энергии бактериями.....	51
4.1.5. Отношение к молекулярному кислороду.....	52
4.1.6. Конструктивный метаболизм.....	52
4.1.7. Транспорт веществ.....	53
4.1.8. Рост и размножение.....	54
4.2. Культивирование бактерий.....	57
4.3. Строение и репликация генома бактерий.....	60
4.4. Особенности физиологии грибов и простейших.....	63
4.5. Физиология вирусов и их культивирование.....	64
4.6. Бактериофаги (вирусы бактерий).....	68
Вопросы и задания для самоконтроля.....	71

Глава 5. Экология микроорганизмов — микроэкология	72
5.1. Распространение микроорганизмов в окружающей среде	72
5.2. Микрофлора организма человека	75
5.2.1. Микрофлора тела человека	75
5.2.2. Значение микрофлоры организма человека	78
5.2.3. Дисбактериоз и дисбиоз	79
5.3. Влияние физических и химических факторов на микроорганизмы	80
5.4. Понятие о стерилизации и дезинфекции	82
5.4.1. Стерилизация	82
5.4.2. Дезинфекция	83
5.5. Понятие об асептике и антисептике. Методы асептики и антисептики	84
5.5.1. Асептика	84
5.5.2. Антисептика	85
Задания для самоконтроля	86
Глава 6. Антибактериальные препараты	87
6.1. Антибактериальные средства и механизм их действия.	88
6.1.1. Синтетические химиотерапевтические препараты.	88
6.1.2. Антибиотики	89
6.2. Механизмы устойчивости бактерий к антибактериальным препаратам	90
6.3. Определение чувствительности бактерий к антибактериальным препаратам	91
6.4. Противогрибковые препараты	92
6.5. Противопротозойные препараты.	92
6.6. Противовирусные препараты	93
6.7. Осложнения антибактериальной терапии	93
Задания для самоконтроля	94
Глава 7. Инфекция.	95
7.1. Характеристика инфекционного процесса	95
7.2. Движущие силы инфекционного процесса.	99
7.2.1. Роль возбудителя инфекционного процесса.	99
7.2.2. Роль макроорганизма в развитии инфекционного процесса	104
7.2.3. Роль внешней среды	105
7.3. Основные эпидемиологические понятия.	106
Задания для самоконтроля	108
Глава 8. Имунитет.	109
8.1. Понятие об имунитете.	109
8.2. Система врожденной резистентности.	112
8.2.1. Клеточные факторы биологического барьера	113
8.2.2. Гуморальные факторы биологического барьера	114

8.3. Иммунная система человека	117
8.3.1. Иммунокомпетентные клетки	119
8.3.2. Межклеточная кооперация	120
8.3.3. Антигены	121
8.4. Основные формы иммунного реагирования.	126
8.5. Особенности иммунитета при бактериальных, вирусных, грибковых инфекциях и протозойных инвазиях.	135
8.5.1. Особенности иммунитета при бактериальных инфекциях	135
8.5.2. Особенности противовирусного иммунитета	135
8.5.3. Особенности противогрибкового иммунитета	136
8.5.4. Особенности иммунитета при протозойных инвазиях.	136
8.5.5. Особенности противоглистного иммунитета	137
8.6. Иммунный статус человека. Патология иммунной системы	137
8.6.1. Иммунный статус	137
8.6.2. Иммунодефициты	138
8.7. Иммунодиагностические реакции	140
8.7.1. Реакции, связанные с образованием макромолекулярного иммунного комплекса	141
8.7.2. Реакции лизиса	142
8.7.3. Реакции с использованием меченых реагентов	143
8.8. Медицинские иммунобиологические препараты	144
8.8.1. Вакцины, бактериофаги и пробиотики.	144
8.8.2. Иммуноглобулины и иммунные сыворотки	148
8.8.3. Иммуномодуляторы.	148
8.8.4. Адаптогены	149
8.8.5. Иммунодиагностические препараты	149
Вопросы и задания для самоконтроля.	149

ЧАСТЬ II. ЧАСТНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

Глава 9. Микробиологическая диагностика инфекционных заболеваний	153
9.1. Основные методы диагностики инфекционных заболеваний.	153
9.2. Сбор, хранение и транспортировка материала для исследования.	158
9.3. Современные технологии, применяемые в микробиологической диагностике инфекционных заболеваний.	161
Задания для самоконтроля.	162
Глава 10. Возбудители бактериальных инфекций	163
10.1. Методы диагностики бактериальных инфекций	163
10.2. Возбудители бактериальных кишечных инфекций	164
10.2.1. Возбудители эшерихиозов	164

10.2.2.	Возбудители дизентерии	166
10.2.3.	Возбудители брюшного тифа и паратифов	167
10.2.4.	Возбудители сальмонеллезов	170
10.2.5.	Возбудители холеры	172
10.2.6.	Возбудители бруцеллеза	174
10.2.7.	Возбудители пищевых токсикоинфекций и пищевых интоксикаций	176
10.2.8.	Возбудитель ботулизма	177
10.3.	Возбудители бактериальных респираторных инфекций	179
10.3.1.	Возбудитель дифтерии	179
10.3.2.	Возбудитель коклюша	182
	Возбудитель паракоклюша	185
10.3.3.	Возбудители туберкулеза	185
10.3.4.	Возбудители менингококковой инфекции	189
10.3.5.	Возбудитель скарлатины	192
10.3.6.	Возбудители респираторных хламидиозов	194
	Респираторный хламидиоз	196
	Орнитоз	197
10.3.7.	Микоплазмы — возбудители заболеваний дыхательных путей	198
10.4.	Бактериальные инфекции с кровяным механизмом передачи	200
10.4.1.	Возбудитель чумы	200
10.4.2.	Возбудитель туляремии	203
10.4.4.	Возбудители боррелиозов	205
	Возбудители возвратных тифов	206
	Возбудители болезни Лайма	207
10.4.5.	Возбудители риккетсиозов	209
	Возбудитель эпидемического сыпного тифа	211
	Возбудитель эндемического сыпного тифа	214
	Возбудитель клещевого сыпного тифа	214
10.5.	Бактериальные инфекции с контактным механизмом передачи	215
10.5.1.	Возбудитель сибирской язвы	215
10.5.2.	Возбудитель столбняка	219
10.5.3.	Возбудители газовой анаэробной инфекции	221
10.5.4.	Возбудитель сифилиса	225
10.5.5.	Возбудители гонореи и бленнореи	228
10.5.6.	Хламидии — возбудители урогенитальных инфекций	229
	Венерическая лимфогранулема	232
10.5.7.	Возбудители урогенитальных микоплазмозов и уреаплазмоза	233
10.6.	Условно патогенные микроорганизмы	233
10.6.1.	Стафилококки	234
10.6.2.	Стрептококки	237

10.6.3. Псевдомонады	239
10.6.4. Неспорообразующие анаэробы	242
Задания для самоконтроля	244
Глава 11. Возбудители вирусных инфекций	245
11.1. Методы диагностики вирусных инфекций	245
11.2. Возбудители вирусных кишечных инфекций	246
11.2.1. Возбудители энтеровирусных инфекций	246
11.2.2. Возбудители полиомиелита	248
11.2.3. Возбудитель гепатита А	250
11.2.4. Возбудитель гепатита Е	251
11.2.5. Возбудители ротавирусной инфекции	252
11.3. Возбудители вирусных инфекций дыхательных путей	253
11.3.1. Возбудители гриппа	253
11.3.2. Возбудители острых респираторных вирусных инфекций	258
Возбудители аденовирусной инфекции	258
Возбудитель респираторно-синцитиальной инфекции ..	260
Возбудители парагриппа	261
Возбудители риновирусной инфекции	262
11.3.3. Возбудители тяжелого острого респираторного синдрома	263
11.3.4. Возбудитель кори	265
11.4.5. Возбудитель эпидемического паротита	266
11.3.6. Возбудитель краснухи	268
Врожденная краснуха	270
11.3.7. Возбудитель натуральной оспы	270
11.3.8. Возбудители ветряной оспы и опоясывающего герпеса	272
11.4. Возбудители вирусных инфекций с кровяным механизмом передачи	274
11.4.1. Возбудители арбовирусных инфекций	274
Возбудитель клещевого энцефалита	275
Возбудитель желтой лихорадки	277
Возбудитель геморрагической лихорадки Крым–Конго ..	278
11.4.2. Возбудитель гепатита В	280
11.4.3. Возбудители парентеральных вирусных гепатитов ..	282
Возбудитель гепатита D	282
Возбудитель гепатита С	283
11.4.4. Возбудитель ВИЧ-инфекции	284
11.5. Возбудители инфекций с контактным механизмом передачи	289
11.5.1. Возбудитель простого герпеса	289
11.5.2. Возбудитель цитомегаловирусной инфекции	292
11.5.3. Возбудитель бешенства	293
11.5.4. Возбудители папилломавирусной инфекции	297

11.6. Онкогенные вирусы.	298
11.6.1. РНК-содержащие онкогенные вирусы	299
11.6.2. ДНК-содержащие онкогенные вирусы	300
11.7. Прионы, медленные инфекции.	301
Куру	303
Болезнь Крейтцфельда—Якоба	303
Задания для самоконтроля.	304
Глава 12. Паразитология	305
12.1. Методы микробиологической диагностики протозойных инфекций.	305
12.2. Возбудители протозойных кишечных инфекций	306
12.2.1. Возбудитель токсоплазмоза	306
12.2.2. Возбудитель амебиаза	308
12.2.3. Возбудители криптоспориديоза	310
12.2.4. Возбудитель лямблиоза.	312
12.2.5. Возбудитель балантидиаза.	313
12.3. Возбудители протозойных кровяных инвазий.	314
12.3.1. Возбудители малярии	314
12.3.2. Возбудители лейшманиозов.	316
12.3.3. Возбудители трипаносомозов	318
12.4. Возбудители протозойных инвазий мочеполовых путей	320
12.4.1. Возбудитель трихомоноза	320
Задания для самоконтроля.	321
Глава 13. Микология.	322
13.1. Методы микробиологической диагностики микозов	322
13.2. Возбудители грибковых кишечных инфекций — микотоксикозов	323
13.3. Возбудители грибковых респираторных инфекций	326
13.4. Возбудители грибковых инфекций наружных покровов	327
13.5. Дрожжи и дрожжеподобные грибы	330
13.5.1. Возбудители кандидоза	330
13.5.2. Возбудитель пневмоцистоза.	331
13.5.3. Возбудители криптококкоза.	332
13.5.4. Возбудитель разноцветного лишая.	333
Задания для самоконтроля.	334
Глава 14. Частная гельминтология	335
14.1. Общая характеристика гельминтов	335
14.2. Источники инвазии, пути распространения и заражения гельминтами	336
14.3. Классификация гельминтов. Характеристика их отдельных представителей	336
14.3.1. Класс сосальщиков.	337
14.3.2. Класс ленточных червей	337
14.3.3. Класс собственно круглых червей	339

14.4. Забор и транспорт материала для микробиологического исследования.	340
14.5. Методы микробиологической диагностики гельминтозов ..	340
14.6. Профилактика гельминтозов	342
Задания для самоконтроля	343
Глава 15. Внутрибольничные инфекции	344
15.1. Понятие о внутрибольничной инфекции	344
15.2. Этиология внутрибольничных инфекций.	345
15.3. Основные причины возникновения внутрибольничных инфекций	346
15.4. Микробиологическая диагностика внутрибольничных инфекций.	348
15.5. Профилактика внутрибольничных инфекций.	350
Вопросы и задания для самоконтроля.	352
Ответы на вопросы и задания для самоконтроля	353
Список литературы	356
Предметный указатель	357
Указатель лекарственных средств	363

4.1. ОСОБЕННОСТИ ФИЗИОЛОГИИ БАКТЕРИЙ

4.1.1. ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ БАКТЕРИАЛЬНОЙ КЛЕТКИ

Бактериальная клетка на 80—90% состоит из воды, и только 10% приходится на долю сухого вещества. Вода в клетке находится в свободном или связанном состоянии. Она выполняет механическую роль в обеспечении тургора, участвует в гидролитических реакциях. Удаление воды из клетки путем высушивания приводит к приостановке процессов метаболизма, прекращению размножения, а для многих бактерий — к гибели. В то же время особый способ высушивания микроорганизмов в вакууме из замороженного состояния — *лиофилизация*, которая обеспечивает сохранение жизнеспособности большинства микроорганизмов. Лиофилизацию используют для приготовления проб, пригодных для длительного хранения, и при приготовлении вакцин.

Состав сухого вещества бактерий распределен следующим образом: 52% — белки, 17% — углеводы, 9% — липиды, 16% — РНК, 3% — ДНК и 3% — минеральные вещества.

Белки выполняют роль ферментов, а также входят в состав ЦПМ и ее производных, клеточной стенки, жгутиков, спор и некоторых

капсул. Некоторые бактериальные белки являются АГ и токсинами бактерий.

Углеводы представлены в бактериальной клетке в виде моно-, ди-, олиго- и полисахаридов. Они находятся в составе некоторых капсул, клеточной стенки. Крахмал и гликоген выполняют функцию запасных питательных веществ. Некоторые полисахариды принимают участие в формировании АГ.

Липиды, или жиры, входят в состав ЦПМ и ее производных; клеточной стенки грамотрицательных бактерий, эндотоксина грамотрицательных бактерий. Они служат запасными веществами, а в составе ЛПС формируют АГ. У некоторых бактерий в клетке находятся воски, эфиры миколовой кислоты. Микоплазмы — единственные представители царства *Procaryotae*, имеющие в составе ЦПМ стеролы. Другие бактерии в составе ЦПМ и ее производных стеролов не имеют.

Нуклеиновые кислоты. В бактериальной клетке присутствуют все типы РНК: иРНК, транспортная РНК (тРНК), рибосомная РНК (рРНК), двухцепочечная ДНК. Пуриновые и пиримидиновые нуклеотиды — строительные блоки, из которых построены нуклеиновые кислоты.

Минеральные вещества представлены N, S, P, Ca, K, Mg, Fe, Mn, а также микроэлементами: Zn, Cu, Co, Ba. Они входят в структуру белков, нуклеотидов и выступают в роли активаторов ферментов.

4.1.2. КЛАССИФИКАЦИЯ БАКТЕРИЙ ПО ТИПАМ ПИТАНИЯ И СПОСОБАМ ПОЛУЧЕНИЯ ЭНЕРГИИ

Основной целью метаболизма бактерий является рост, т.е. координированное увеличение всех компонентов клетки. В связи с тем что основными компонентами бактериальной клетки являются органические соединения, белки, углеводы, нуклеиновые кислоты и липиды, остов которых построен из атомов углерода, для роста требуется постоянный приток атомов углерода.

В зависимости от источника усвояемого углерода бактерии подразделяют:

- на **аутотрофы** (от греч. *autos* — «сам», *trophe* — «питание») — использующие для построения своих клеток неорганический углерод в виде CO_2 ;
- **гетеротрофы** (от греч. *heteros* — «другой») — использующие органический углерод. Легкоусвояемыми источниками органического углерода являются гексозы, многоатомные спирты, аминокислоты, липиды.

Белки, жиры, углеводы и нуклеиновые кислоты — крупные полимерные молекулы, синтезируемые из мономеров в реакциях

поликонденсации, протекающих с поглощением энергии. Именно поэтому для восполнения своей биомассы бактериям, помимо источника углерода, требуется источник энергии. Энергия запасается бактериальной клеткой в форме молекул *аденозинтрифосфорной кислоты* (АТФ).

Организмы, для которых источником энергии является свет, называются *фототрофами*, а организмы, получающие энергию за счет окислительно-восстановительных реакций, — *хемотрофами*.

Среди хемотрофов выделяют *литотрофы* (от греч. *lithos* — «камень»), способные использовать неорганические доноры электронов (H_2 , NH_3 , H_2S , Fe^{2+} и др.), и *органотрофы*, использующие в качестве доноров электронов органические соединения.

Бактерии, изучаемые в медицинской микробиологии, являются *гетерохемоорганотрофами*. Отличительная особенность этой группы — источник углерода у них является источником энергии.

Среди бактерий выделяют *сапрофиты* (от греч. *sapros* — «гнилой», *phyton* — «растение»), питающиеся мертвым органическим материалом и независимые от других организмов, и *паразиты* (от греч. *parasites* — «нахлебник») — гетеротрофные микроорганизмы, зависящие в получении питательных веществ от макроорганизма.

Паразиты бывают *факультативными*, существующими как внутри макроорганизма, так и культивируемыми на искусственных питательных средах, и *облигатными*, которые не могут жить вне клеток макроорганизма; к ним относятся риккетсии, хламидии.

4.1.3. ФЕРМЕНТЫ БАКТЕРИЙ

В основе всех метаболических реакций в бактериальной клетке лежит деятельность *ферментов*, являющихся биологическими катализаторами и ускоряющих химические реакции. Ферменты, образуемые бактериальной клеткой, могут локализоваться как внутри клетки — *эндоферменты*, так и выделяться в окружающую среду — *экзоферменты*. Экзоферменты играют большую роль в обеспечении бактериальной клетки доступными для проникновения внутрь источниками углерода и энергии: выделяясь в окружающую среду, они расщепляют крупные молекулы пептидов, полисахаридов, липидов до мономеров, способных проникнуть внутрь клетки. Ряд экзоферментов, например, гиалуронидаза, коллагеназа и др., являются *ферментами агрессии*. Ферменты также участвуют в процессах переноса веществ в бактериальную клетку. *Ферментативный спектр* является *таксономическим признаком*, характерным для семейства, рода и в некоторых случаях — для видов. Именно поэто-

му определением спектра ферментативной активности пользуются при установлении таксономического положения бактерий. Наличие экзоферментов можно определить с помощью дифференциально-диагностических сред (см. раздел 4.2).

4.1.4. ПОЛУЧЕНИЕ ЭНЕРГИИ БАКТЕРИЯМИ

Энергия в бактериальной клетке накапливается в форме молекул аденозинтрифосфорной кислоты, образующейся в реакциях окисления и восстановления, сопряженных с реакциями фосфорилирования. Бактерии могут получать энергию двумя способами: дыханием и брожением.

Дыхание — процесс получения энергии в реакциях окисления и восстановления, сопряженных с реакциями окислительного фосфорилирования, при котором донорами электронов могут быть органические (у органотрофов) и неорганические (у литотрофов) соединения, а акцепторами — только неорганические соединения. Акцепторами электронов в процессе дыхания у бактерий могут быть кислород (в этом случае говорят о кислородном дыхании, или биологическом окислении), а также нитрат и сульфат. Конечными продуктами дыхания являются CO_2 и вода. Окисляться могут углеводы, липиды, белки. Процесс окисления белков называется *гниением*. В процессе гниения происходит минерализация белка, при которой он разлагается до CO_2 , NH_3 , H_2S . К гнилостным бактериям относятся *Proteus*, *Pseudomonas*, *Bacillus cereus*.

Брожение, или **ферментация**, — процесс получения энергии, при котором как донором, так и акцептором электронов являются органические соединения.

Кислород в процессе брожения участия не принимает. Восстановленные органические соединения выделяются в питательную среду и накапливаются в ней. Ферментироваться могут углеводы, аминокислоты (за исключением ароматических), пурины, пиримидины, многоатомные спирты. Не способны сбраживаться ароматические углеводороды, стероиды, каротиноиды, жирные кислоты. Эти вещества разлагаются и окисляются только в присутствии кислорода, а в анаэробных условиях они стабильны. Продукты брожения — кислоты, газы, спирты.

Исходя из природы конечных продуктов, различают несколько типов брожения углеводов: спиртовое, молочнокислое, муравьинокислое, маслянокислое.

Продукты брожения используют в пищевой промышленности, а также для идентификации бактерий.

4.1.5. ОТНОШЕНИЕ К МОЛЕКУЛЯРНОМУ КИСЛОРОДУ

По отношению к кислороду, а также по использованию его в процессах получения энергии микроорганизмы подразделяются на три группы: облигатные аэробы, облигатные анаэробы, факультативные анаэробы.

- **Облигатные аэробы** растут и размножаются только в присутствии кислорода, используя его для получения энергии путем кислородного дыхания. Облигатные аэробы подразделяются на *строгие*, растущие при парциальном давлении атмосферы воздуха, и *микроаэрофилы*, использующие кислород в процессах получения энергии, но растущие только при его пониженном парциальном давлении.
- **Облигатные анаэробы** не используют кислород для получения энергии и подразделяются на две группы: *строгие* и *аэротолерантные*. Для *строгих* анаэробов молекулярный кислород токсичен, он убивает микроорганизмы или ограничивает их рост. Энергию *строгие* анаэробы получают маслянокислым брожением. К *строгим* анаэробам относятся, например, некоторые клостридии (*C. botulinum*, *C. tetani*), бактероиды. *Аэротолерантные* анаэробы не используют кислород для получения энергии, но могут существовать в его атмосфере. К ним относятся молочнокислые бактерии.
- **Факультативные анаэробы** растут и размножаются как в присутствии кислорода, так и без него. Энергию они получают в присутствии кислорода за счет кислородного дыхания, а при его отсутствии — брожением. У этой группы бактерий встречается также бескислородное нитратное дыхание.

Различное отношение микроорганизмов к кислороду связано с наличием или отсутствием у них защитных систем, позволяющих существовать в атмосфере кислорода. В процессе окисления в присутствии кислорода образуются токсические продукты, например, перекись водорода (H_2O_2). Микроорганизмы, способные существовать в атмосфере кислорода, имеют защитные механизмы, нейтрализующие токсические соединения. Например, фермент каталаза разлагает перекись водорода на воду и молекулярный кислород. Строгие анаэробы не имеют каталазы, для их культивирования создаются условия, позволяющие удалять атмосферный кислород.

4.1.6. КОНСТРУКТИВНЫЙ МЕТАБОЛИЗМ

Основные органические компоненты бактериальной клетки синтезируются в реакциях полимеризации из строительных блоков: аминокислот, фосфатов, сахаров, пуриновых и пиримидиновых

оснований, органических кислот. Поставщики этих строительных блоков — промежуточные продукты основных путей энергетического метаболизма.

Синтез белка у бактерий происходит так же, как и в клетках эукариот и на рибосомах. Процесс синтеза белка — важная мишень для разнообразных антибактериальных препаратов.

Среди бактерий выделяется группа *прототрофов*, способных синтезировать все компоненты клетки из одного источника углерода и энергии. Если бактерии теряют способность образовывать какое-либо жизненно важное вещество (аминокислоту, витамин), участвующее в биосинтетических процессах, то для их роста и размножения требуется его поступление в готовом виде. Такие вещества называют *факторами роста*, а бактерии, для роста которых они требуются, — *ауксотрофами*.

4.1.7. ТРАНСПОРТ ВЕЩЕСТВ

Транспорт веществ в бактериальную клетку

Ответственность за поступление в клетку питательных веществ лежит на ЦПМ. Существуют два типа переноса веществ в бактериальную клетку: пассивный и активный.

При *пассивном* переносе вещество проникает в клетку только по градиенту концентрации, затраты энергии при этом не происходит. При *активном* переносе вещество проникает в клетку против градиента концентрации с помощью белка-переносчика — *пермеазы*, при этом происходит затрата энергии.

Транспорт веществ из бактериальной клетки

В процессе жизнедеятельности бактериям требуется выделять в окружающую среду различные белки и ферменты. Они участвуют в построении клеточных оболочек, жгутиков, пилей, расщепляют крупные полимерные молекулы, используемые в качестве питательных веществ, до размеров, способных проходить через бактериальную ЦПМ. У грамположительных бактерий белки секретируются непосредственно во внешнюю среду. У грамотрицательных бактерий из-за наличия наружной мембраны сформировались специальные секреторные системы, через которые выделение из бактериальной клетки веществ происходит с поглощением энергии.

Особый интерес для медицинской микробиологии представляет *III путь секреции*, также используемый для направленной доставки в эукариотическую клетку бактериальных белков. В результате действия последних в клетке возникают нарушения различных функций,

приводящие в конечном итоге к возникновению у человека заболеваний. Подробно III путь секреции рассмотрен в подразделе 7.2.1 (рис. 4.1).

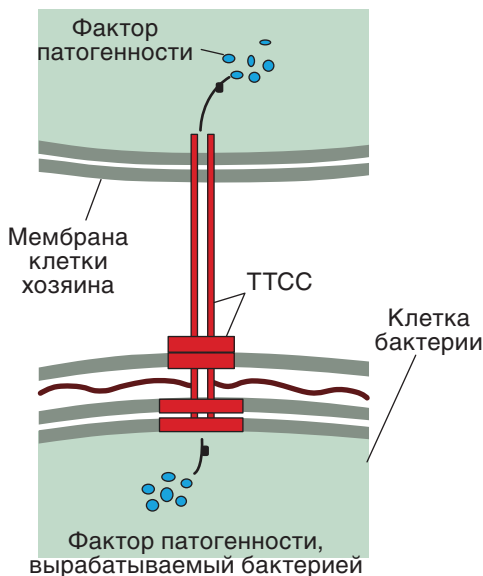


Рис. 4.1. Схема строения III типа секреторной системы, непосредственно доставляющей в эукариотическую клетку бактериальные белки

Некоторые этапы секреции могут подавляться антибактериальными препаратами. Например, транспорт через мембрану молекул, необходимых для синтеза пептидогликана, блокируется гликопептидным антибиотиком — ванкомицином.

4.1.8. РОСТ И РАЗМНОЖЕНИЕ

Рост бактериальных клеток связан с синтезом и накоплением всех компонентов, входящих в ее состав, и увеличением размера в пределах, характерных для данного вида. В условиях, обеспечивающих рост микроорганизмов, происходит и процесс их деления. Для большинства бактерий характерно *поперечное бинарное деление*, приводящее к образованию двух дочерних клеток.

Деление бактериальной клетки начинается спустя некоторое время после завершения цикла репликации хромосомы, протекающего у бактерий по полуконсервативному механизму. Это означает, что каждая из двух нитей ДНК хромосомы служит матрицей для син-

теза комплементарной дочерней цепи ДНК. Размножение бактерий бинарным делением приводит к росту числа бактериальных клеток в геометрической прогрессии.

В питательной среде бактерии растут и размножаются до тех пор, пока содержание какого-нибудь из необходимых компонентов среды не достигает минимума, после чего рост и размножение прекращаются. Если на протяжении всего этого времени не прибавлять питательные вещества и не удалять конечные продукты обмена, образуется статическая бактериальная культура. Построив график, по оси абсцисс которого отложить время, а по оси ординат — количество клеток, можно получить *кривую роста*, описывающую зависимость числа образующихся клеток от времени размножения (рис. 4.2).



Рис. 4.2. Кривая бактериального роста

На кривой роста бактерий в жидкой питательной среде можно различить несколько фаз, сменяющих друг друга в определенной последовательности.

- **Начальная — лаг-фаза** (от англ. *lag* — «отставать»), охватывает промежуток времени между посевом бактерий и началом размножения. Во время лаг-фазы происходит адаптация бактериальных клеток к новым условиям культивирования.
- **Экспоненциальная (логарифмическая) фаза** характеризуется постоянной максимальной скоростью деления клеток. Время удвоения клеток называется временем генерации, отличаю-

щимся у разных видов бактерий: у бактерий рода *Pseudomonas* оно составляет 14 мин, а у *Mycobacterium* — 24 ч.

- **Стационарная фаза** наступает, когда количество клеток перестает увеличиваться, что связано с уменьшением содержания питательных веществ и кислорода в питательной среде и накоплением токсических продуктов обмена. Продолжительность этой фазы составляет несколько часов и зависит от вида бактерий и особенностей их культивирования.
- **Фаза отмирания** наступает вследствие накопления кислых продуктов обмена или в результате автолиза под влиянием собственных ферментов. Продолжительность этой фазы колеблется от десятка часов до нескольких недель.

На жидких питательных средах рост и размножение бактерий проявляются в виде диффузного помутнения, образования придонного осадка или поверхностной пленки. На плотных питательных средах бактерии образуют скопления клеток — *колонии*, считающиеся потомком одной клетки. Колонии различаются формой, размером, поверхностью, прозрачностью, консистенцией и окраской. Колонии с гладкой блестящей поверхностью называют *S-формами* (от англ. *smooth* — «гладкий»), а колонии с матовой шероховатой поверхностью — *R-формами* (от англ. *rough* — «шероховатый»).

Окраска колоний определяется способностью бактерий синтезировать пигменты. Пигменты различаются по цвету, химическому составу, растворимости и обладают защитными свойствами.

Вид, форма, цвет и другие особенности колоний, а также характер роста на плотных питательных средах определяются как *культуральные свойства* бактерий и учитываются при их идентификации.

Помимо бинарного деления, некоторые представители царства *Procaryotae* имеют иные способы размножения. Актиномицеты могут размножаться путем *фрагментации гифов*. Представители семейства *Streptomycetaceae* размножаются *спорами*. Микоплазмы, помимо поперечного деления, могут размножаться *почкованием*.

Хламидии не обладают способностью к бинарному делению. Они проходят через цикл развития, который предусматривает существование двух форм: внеклеточной — в виде инфекционных, малых размеров *элементарных телец*, не способных к бинарному делению, и *внутриклеточной* — в виде метаболически активных, крупных размеров *ретикулярных телец*, способных к бинарному делению. В результате бинарного деления ретикулярного тельца формируются дочерние элементарные тельца, выделяющиеся из клетки.

Некоторые спирохеты, например *Treponema pallidum*, способны образовывать в неблагоприятных условиях цисты, которые, распадаясь на зерна, дают потомство новым бактериальным клеткам.

4.2. КУЛЬТИВИРОВАНИЕ БАКТЕРИЙ

Для культивирования бактерий необходимы следующие условия.

— Полноценная питательная среда.

Искусственные питательные среды должны отвечать следующим требованиям:

- каждая питательная среда должна содержать воду, так как в ней протекают все процессы жизнедеятельности бактерий;
- для культивирования гетероорганотрофных бактерий в среде должны содержаться органические источники углерода и энергии (углеводы, аминокислоты, органические кислоты, липиды);
- для биосинтетических процессов бактериям требуются источники азота, серы, фосфаты, микроэлементы. Источником азота служит *пептон* — продукт неполного гидролиза белков, поставляющий аминокислоты для построения бактериальных белков. Бактерии способны утилизировать минеральные вещества в виде неорганических солей;
- поддержание определенного pH имеет значение для предотвращения гибели микроорганизмов от ими же образованных продуктов обмена;
- среда должна обладать определенным осмотическим давлением. Большинство бактерий способны расти на изотонических средах, чего достигают добавлением NaCl в концентрации 0,87%;
- питательные среды должны быть стерильными.

В зависимости от консистенции питательные среды могут быть *жидкими*, *полужидкими* и *плотными*. Плотность среды достигается добавлением агара.

Агар — полисахарид, получаемый из водорослей. Он плавится при температуре 100 °С, а при охлаждении остывает при 45–50 °С. Агар добавляют в концентрации 0,5% для создания полужидких сред и в концентрации 1,5–2% — для плотных. В зависимости от состава и цели применения различают простые, сложные, элективные, дифференциально-диагностические и комбинированные среды.

К *простым средам* относятся пептонная вода, питательный бульон, мясопептонный агар. На основе этих простых сред готовят *сложные среды*, например, сахарный и сывороточный бульоны, кровяной агар.

В зависимости от назначения среды подразделяются на элективные, среды обогащения и дифференциально-диагностические.

На *элективных средах* лучше растет какой-то определенный микроорганизм. Например, щелочной агар, имеющий $\text{pH} = 9,0$, служит для выделения холерного вибриона. Другие бактерии, в частности кишечная палочка, из-за высокого pH на этой среде не растут.

Среды обогащения стимулируют рост какого-то определенного микроорганизма, ингибируя рост других. Например, среда, содержащая селенит натрия, стимулирует рост бактерий рода *Salmonella*, ингибируя рост кишечной палочки.

Дифференциально-диагностические среды служат для изучения ферментативной активности бактерий. Они состоят из простой питательной среды с добавлением субстрата, на который должен подействовать фермент, и индикатора, меняющего свой цвет в результате ферментативного превращения субстрата. Например, среды Гиса (рис. 4.3 а) используют для изучения способности бактерий ферментировать сахара; среда Клиглера позволяет дифференцировать бактерии по способности ферментировать глюкозу, лактозу и продуцировать сероводород (рис. 4.3 б).

Комбинированные среды сочетают элективную среду, подавляющую рост сопутствующей микрофлоры, и дифференциальную среду, диагностирующую ферментативную активность выделяемого микроорганизма. Примерами таких сред служат среда Флоскирева и висмут-сульфитный агар, используемые при выделении патогенных кишечных бактерий. Эти среды ингибируют рост кишечной палочки.

— **Температура культивирования.**

Температура влияет на скорость размножения. По отношению к температуре роста бактерии разделяются на три основные группы: психрофилы, мезофилы и термофилы. Психрофилы живут и размножаются при пониженных температурах (от -10 до $+20$ °C). Мезофилы имеют температурный диапазон роста между 30 и 45 °C. К этой группе относится большинство возбудителей болезней человека, оптимальный рост которых возможен при температуре 37 °C. Термофилы способны расти при повышенных температурах.

Для поддержания требуемой температуры используют специальные приборы — термостаты.

— **Атмосфера культивирования.**

Для роста и размножения строгих аэробов необходим кислород. Аэробы хорошо растут на поверхности агара на чашках Петри или в тонком верхнем слое жидкой среды. Факультативные анаэробы культивируют в аналогичных условиях.



Рис. 4.3 а. Дифференциально-диагностические среды. Среда Гиса

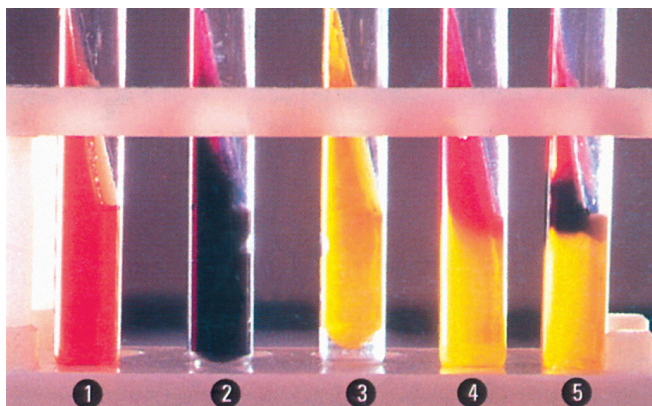


Рис. 4.3 б. Дифференциально-диагностические среды. Рост представителей семейства *Enterobacteriaceae* на среде Клиглера: 1 — среда до посева; 2 — *Salmonella*; 3 — *Escherichia*; 4 — *Shigella*; 5 — *Salmonella Typhi*

Микроаэрофилы, нуждающиеся в пониженной концентрации кислорода, культивируют в атмосфере 5% CO_2 в специальных CO_2 -инкубаторах или же посеvy помещают в эксикаторы, в которых устанавливают горящую свечу.

Облигатные анаэробы для своего роста и размножения требуют исключения доступа кислорода воздуха. Этого достигают следующими мерами:

- добавлением к питательным средам редуцирующих кислород веществ — тиогликолевой, аскорбиновой кислот;
- освобождением от кислорода воздуха жидких питательных сред путем их кипячения с последующим плотным закупориванием сосудов, в которые налиты среды, резиновыми пробками;

- использованием поглотителей кислорода, помещая их в герметически закрываемые емкости — «Газпаки»; этот метод используют для культивирования аэротолерантных бактерий;
- механическим удалением кислорода воздуха с последующим заполнением емкости инертным газом (для этих целей используют анаэроостаты и анаэробные боксы).

Время культивирования зависит от времени генерации. Большинство бактерий культивируют для получения видимого роста в течение 18–48 ч. Для культивирования возбудителя коклюша требуется 5 сут, а для *M. tuberculosis* — 3–4 нед.

— Освещение.

Для выращивания фототрофных микроорганизмов необходим свет. Некоторые условно патогенные микобактерии в зависимости от освещенности образуют пигмент, который используют при их идентификации.

Культивирование абсолютных внутриклеточных паразитов, бактерий, относящихся к родам *Rickettsia*, *Chlamydia*, осуществляют на культурах клеток или в организме животных и членистоногих, а также на куриных эмбрионах.

4.3. СТРОЕНИЕ И РЕПЛИКАЦИЯ ГЕНОМА БАКТЕРИЙ

Наследственную функцию в бактериальной клетке выполняет ДНК. Молекула ДНК построена из двух полинуклеотидных цепочек. Каждый нуклеотид состоит из азотистого основания, сахара дезоксирибозы и фосфатной группы. Азотистые основания представлены пуринами (аденином, гуанином) и пиримидинами (тимин, цитозин). Каждый нуклеотид обладает полярностью. У него имеется дезоксирибозный 3'-конец и фосфатный 5'-конец. Нуклеотиды соединяются в полинуклеотидную цепочку посредством фосфодиэфирных связей между 5'-концом одного нуклеотида и 3'-концом другого (рис. 4.4). Соединение цепей обеспечивается водородными связями между комплементарными азотистыми основаниями: аденин с тимин, гуанин с цитозин.

Наследственная информация у бактерий хранится в форме последовательности нуклеотидов в ДНК, которые определяют последовательность аминокислот в белке. Каждому белку соответствует определенный *ген* — дискретный участок ДНК, отличающийся специфичной последовательностью нуклеотидов. Совокупность всех генов называется *геномом* (*генотипом*), а внешнее проявление генома — *фенотипом*. Размеры генома определяются количеством *нуклеотидных пар оснований*.

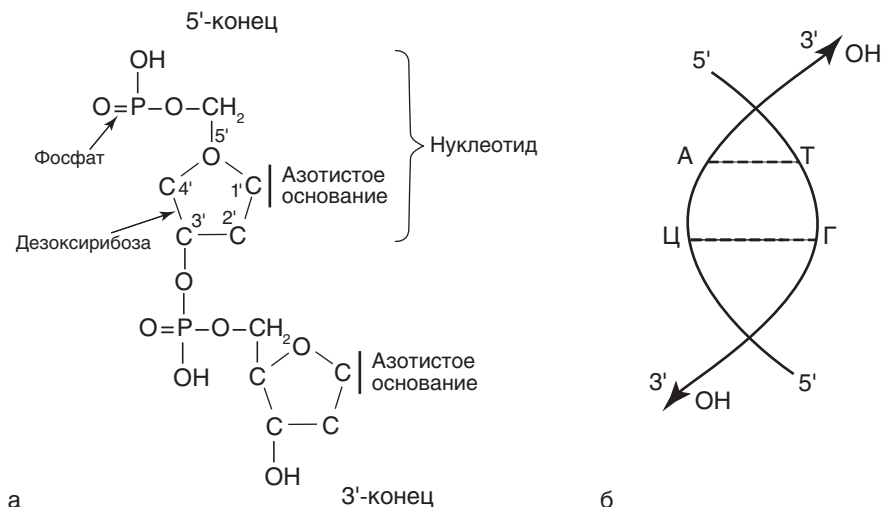


Рис. 4.4. Строение ДНК и ее элементов

Бактериальный геном состоит из генетических элементов, способных к самостоятельной репликации (воспроизведению), — *репликонов*. Репликаонами являются бактериальная хромосома и плазмиды. Геном бактерий имеет гаплоидный набор генов.

Бактериальная хромосома состоит из одной двухцепочечной молекулы ДНК. Она может быть в виде одной кольцевой молекулы ДНК, как у *E. coli*, или в виде линейной ДНК (*B. burgdorferi*). У некоторых бактерий (*V. cholerae*, *Brucella spp.*) имеются две кольцевые хромосомы. Бактериальная хромосома формирует нуклеоид бактериальной клетки и кодирует жизненно важные для бактериальной клетки функции.

Плазмиды — двухцепочечные молекулы ДНК размером от 10^3 до 10^6 нуклеотидных пар, кольцевой или линейной формы. Плазмиды кодируют не основные для жизнедеятельности бактериальной клетки функции, но придающие бактерии преимущества при попадании в неблагоприятные условия существования. Некоторые плазмиды: *трансмиссивные*, способны передаваться из одной клетки в другую, иногда даже принадлежащую иной таксономической единице. Особое значение в медицинской микробиологии имеют плазмиды, обеспечивающие устойчивость бактерий к антибиотикам, которые получили название **Р-плазмид**, и плазмиды, обеспечивающие продукцию факторов патогенности, способствующие развитию инфекционного процесса в макроорганизме.

Р-плазмиды (от англ. *resistance* — «противодействие») содержат гены, детерминирующие синтез ферментов, разрушающих антибак-

териальные препараты (например, антибиотики). В результате наличия такой плазмиды бактериальная клетка становится устойчивой (резистентной) к действию целой группы лекарственных веществ, а иногда и к нескольким препаратам. Многие R-плазмиды являются трансмиссивными: распространяясь в популяции бактерий, они делают ее недоступной к воздействию антибактериальных препаратов (рис. 4.5). Бактериальные штаммы, несущие R-плазмиды, очень часто являются этиологическими агентами внутрибольничных инфекций (см. главу 15).

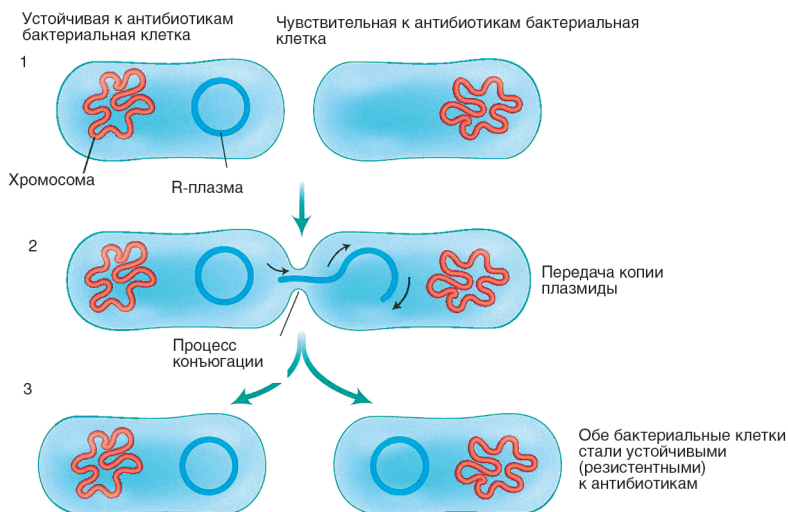


Рис. 4.5. Передача R-плазмиды между бактериальными клетками

Плазмиды, детерминирующие синтез факторов патогенности, в настоящее время обнаружены у многих бактерий, являющихся возбудителями инфекционных заболеваний человека. Репликация плазмид происходит независимо от хромосомы с участием того же набора ферментов, который осуществляет репликацию бактериальной хромосомы.

Перед репликацией матричная двухцепочечная ДНК должна быть расплетена на отдельные цепи, что осуществляется при участии специальных ферментов, в частности *ДНК-гиразы*. Синтез новых цепей ДНК осуществляется ферментом *ДНК-полимеразой*. ДНК-полимераза способна присоединять комплементарные матрице нуклеотиды к свободному 3'-концу растущей цепи. Именно поэтому для реакции полимеризации нуклеотидов на матрице

родительской цепи полимеразе требуется затравка — *праймер* (от англ. *primer* — «запал»). Праймер представляет собой короткую нуклеотидную цепочку РНК, комплементарную матричной цепи, со свободным 3'-концом. Достаивание осуществляется присоединением к свободной гидроксильной группе 3'-конца затравки нового нуклеотида. Синтез ДНК начинается с синтеза РНК. РНК-затравку для синтеза ДНК образует специальный фермент, способный инициировать синтез РНК по одноцепочечной ДНК матрицы при отсутствии затравки. После того как цепь ДНК начала синтезироваться, РНК-затравка удаляется, а образуемые бреши застраиваются ДНК-полимеразой с высокой точностью. Механизм синтеза ДНК составляет основу важного диагностического метода — *полимеразной цепной реакции* (ПЦР), которая подробно рассмотрена в главе 9.

4.4. ОСОБЕННОСТИ ФИЗИОЛОГИИ ГРИБОВ И ПРОСТЕЙШИХ

Грибы растут в широких диапазонах температур (оптимально — при 25–30 °С), имеют половой и бесполой способы размножения, поэтому они широко распространены в окружающей среде, особенно в почве. Вместе с сине-зелеными водорослями они образуют *симбиоз* в виде *лишайника*. В этом симбиозе грибы поглощают воду и растворимые в ней вещества, а сине-зеленые водоросли поставляют грибам органические соединения. Другой вид взаимоотношений — *микориза*, т.е. симбиоз грибов и корней высших растений.

Грибы культивируют в течение нескольких суток на сусле-агаре или жидком сусле, средах Сабуро, Чапека и др. Для этой цели можно использовать лабораторных животных.

Некоторые грибы обладают *диморфизмом*, т.е. способностью образовывать нитчатые и дрожжевые формы в зависимости от условий роста. Дрожжеподобные формы часто образуются *in vivo* (при инфицировании человека грибами).

Простейшие имеют органы движения (жгутики, реснички, псевдоподии), питания (пищеварительные вакуоли) и выделения (сократительные вакуоли). По типу питания они могут быть *гетеротрофами* или *аутотрофами*, а по отношению к кислороду — *аэробами* или *факультативными анаэробами*. Размножаются бесполом и половым путями. Некоторые простейшие имеют сложный жизненный цикл, сопровождаемый сменой форм развития (полового и бесполого размножения), и образуют цисты.

Многие простейшие (дизентерийная амеба, лямблии, трихомонады, лейшмании, балантидии) могут расти на питательных средах, содержащих нативные белки и аминокислоты. Для их культивирования используют культуры клеток (тканей), куриные эмбрионы и лабораторных животных.

4.5. ФИЗИОЛОГИЯ ВИРУСОВ И ИХ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ

Вирусы — облигатные внутриклеточные паразиты: размножаются только в цитоплазме или ядре инфицированных клеток. Взаимодействие вируса с инфицированной клеткой может приводить к различным последствиям:

- разрушению клетки (*некрозу* или *апоптозу* по типу запрограммированной клеточной гибели), в результате чего наблюдается *цитопатический эффект* — клетки округляются, отделяются от соседних клеток, образуя многоядерные гигантские клетки, вакуоли и включения;
- латентной инфекции, когда вирус находится внутри клетки, но не разрушает ее или трансформирует клетку организма в раковую клетку.

Различают три типа взаимодействия вируса с клеткой: продуктивный, абортивный и интегративный.

Продуктивный тип происходит в результате размножения вируса, т.е. его репродукции, завершающейся воспроизводством вирусного потомства — многочисленных вирионов.

Продуктивный тип осуществляется в несколько стадий (рис. 4.6), таких как:

- адсорбция вириона на клетке;
- проникновение вириона в клетку, «раздевание» и высвобождение вирусного генома (стадия *депротеинизации* — в клетке вирус лишается многих своих белков); конечными продуктами депroteинизации могут быть нуклеиновая кислота, нуклеопротеид (нуклеокапсид) или сердцевина вириона;
- синтез вирусных компонентов;
- сборка реплицированной нуклеиновой кислоты и новых капсидных белков;
- выход вирионов из клетки.

В результате зараженные клетки гибнут (*цитотоксическое*, или взрывное, действие, вызванное простыми вирусами). Сложные вирусы выходят из клеток почкованием, не разрушая их (*нецитотоксическое* действие).

Абортивный тип не завершается образованием новых вирионов, поскольку инфекционный процесс в клетке прерывается на одном из этапов.

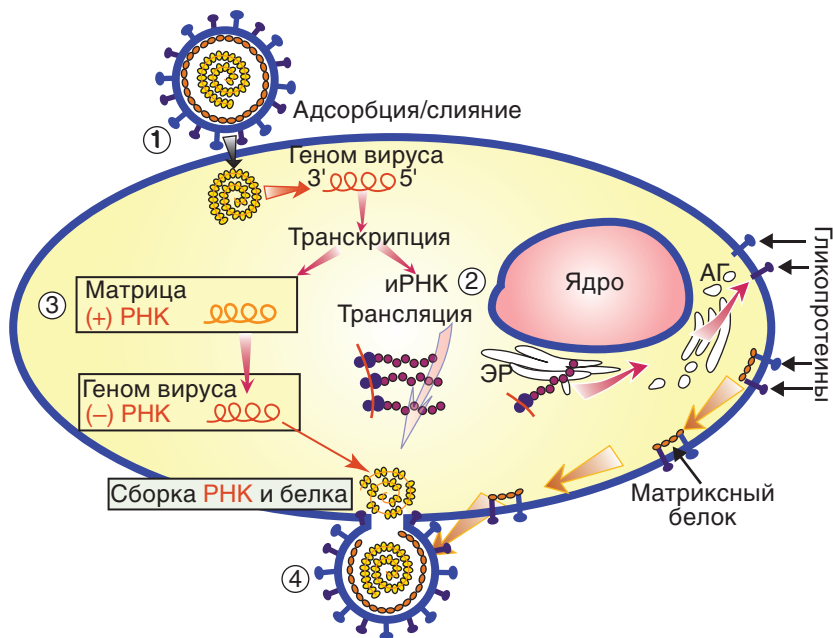


Рис. 4.6. Репродукция минус-однонитевой РНК вируса (парамиксовируса). Вирус связывается гликопротеинами своей оболочки с клеткой и сливается с плазмалеммой (1). С геномной минус-нити РНК-вируса транскрибируются: неполные плюс-нити РНК, являющиеся иРНК (2) для отдельных белков; полная минус-нить РНК — матрица для синтеза геномной минус-нити РНК вируса (3). Нуклеокапсид связывается с матричным белком и гликопротеинмодифицированной плазмалеммой. Вирионы этого сложного вируса выходят почкованием (4)

Интегративный тип, или **виrogenия**, характеризуется встраиванием (интеграцией) вирусной ДНК в виде *провируса* в хромосому клетки и их сосуществованием (совместной репликацией). Провирус реплицируется в составе хромосомы и переходит в геном дочерних клеток. Под влиянием некоторых факторов провирус может исключаться из хромосомы клетки и переходить в автономное состояние с воспроизводством потомства — *вирионов*.

Культивирование вирусов

Вирусы культивируют путем заражения лабораторных животных, куриных эмбрионов и культур клеток (тканей).

Присутствие вируса в исследуемом материале определяют с помощью методов индикации и идентификации. *Индикация вирусов*, т.е.

неспецифическое обнаружение факта инфицирования, основана на выявлении биологических свойств вирусов и особенностей их взаимодействия с чувствительными клетками. *Идентификация* означает установление вида или типа вируса. Она осуществляется в основном с помощью реакций иммунитета или молекулярно-генетических методов (см. главу 9).

Лабораторных животных (белых мышей, хомячков, кроликов, обезьян и др.) заражают вирусосодержащим материалом различными способами в зависимости от тропизма вирусов (подкожно, внутримышечно, интраназально, интрацеребрально и т.д.). Наличие вирусов выявляют по развитию у животных клинических признаков заболевания, патоморфологическим изменениям органов и тканей, а также на основании *реакции гемагглютинации* (РГА) с вирусосодержащим материалом. РГА основана на способности многих вирусов склеивать (агглютинировать) эритроциты своими гликопротеиновыми шипами (гемагглютинидами).

Куриные эмбрионы (5–12-дневные) заражают исследуемым материалом в различные полости и ткани зародыша. Свидетельством репродукции вирусов в куриных эмбрионах являются:

- специфические поражения оболочек и тела эмбриона;
- гибель эмбриона;
- положительная РГА с вирусосодержащей жидкостью, полученной из полостей зараженного зародыша.

Часто вирусы культивируют на культуре клеток. Изолированные клетки, полученные из различных органов и тканей человека, животных, птиц и других биологических объектов, размножают на искусственных питательных средах в специальной лабораторной посуде. Широко распространены культуры клеток из эмбриональных и опухолевых (злокачественно перерожденных) тканей, обладающих по сравнению с нормальными клетками взрослого организма более активной способностью к росту и размножению. Культуру клеток выращивают в специальной лабораторной посуде (пробирках, флаконах, матрасах) или в реакторах для получения биотехнологической продукции. При этом используют сложные питательные среды, содержащие необходимые для роста клеток аминокислоты и другие компоненты. Для подавления роста посторонней микрофлоры в среды для культивирования клеток добавляют антибиотики.

По свойствам жизнеспособных генераций культуры клеток подразделяют:

- на первичные, или первично-трипсинизированные;
- перевиваемые, или стабильные;
- полуперевиваемые.

Первичные культуры клеток размножаются только в первых генерациях, т.е. выдерживают не более 5–10 пассажей после выделения

из тканей. Их получают при обработке кусочков тканей (эмбриональных, опухолевых или нормальных) протеолитическими ферментами, разрушающими межклеточные связи в тканях и органах с образованием изолированных клеток.

Переживаемые культуры клеток способны размножаться в лабораторных условиях неопределенно длительный срок (десятки лет), т.е. выдерживают многочисленные пассажы. Их получают преимущественно из опухолевых или эмбриональных тканей, обладающих большой потенцией роста.

Полупереживаемые культуры клеток имеют ограниченную продолжительность жизни и выдерживают 40–50 пассажей.

О репродукции вирусов в культуре клеток, зараженных вирусосодержащим материалом, можно судить на основании:

- цитопатогенного действия (ЦПД) вирусов в виде морфологических изменений клеток;
- образования внутриклеточных включений;
- образования бляшек;
- реакций гемадсорбции и РГА, цветовой реакции.

Характерные цитоплазматические включения формируются в клетках, инфицированных вирусами натуральной оспы (тельца Гварниери), бешенства (тельца Бабеша–Негри), а внутриядерные включения — при заражении аденовирусами или вирусами герпеса. *Бляшки*, или негативные колонии, представляют собой ограниченные участки разрушенных вирусами клеток в сплошном монослое культуры клеток, культивируемых на питательной среде под агаровым покрытием, содержащим краситель, окрашивающий только живые клетки (рис. 4.7). Они видны невооруженным глазом в виде светлых пятен на фоне окрашенного монослоя живых клеток. Каждая бляшка образуется потомством одного вириона. Однако не все вирусы могут вызывать цитопатический эффект, тогда их выявляют другими методами (реакцией гемадсорбции и др.).

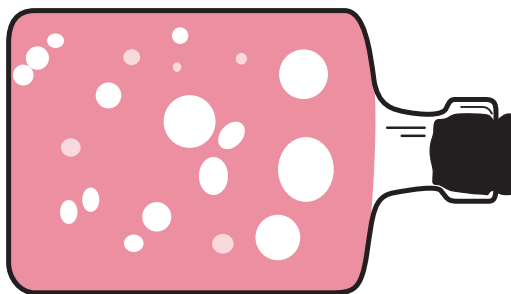


Рис. 4.7. Образование бляшек в культуре клеток, зараженных вирусом

Реакция гемадсорбции основана на способности культур клеток, инфицированных вирусами, адсорбировать на своей поверхности эритроциты.

РГА основана на способности некоторых вирусов вызывать *агглютинацию* (склеивание) эритроцитов за счет своих гликопротеиновых шипов — гемагглютининов.

Цветовая реакция регистрируется по цвету индикатора питательной среды для культур клеток. При репродукции вирусов нормальный метаболизм клеток нарушается (клетки гибнут) и среда сохраняет свой первоначальный цвет. Если же вирусы не размножаются в культуре клеток, то клетки, оставаясь жизнеспособными, в процессе метаболизма выделяют кислые продукты, изменяющие pH среды и, соответственно, цвет индикатора.

4.6. БАКТЕРИОФАГИ (ВИРУСЫ БАКТЕРИЙ)

Бактериофаги (от слова «бактерия» и греч. *phagos* — «пожирающий») — вирусы бактерий, вызывающие их лизис (разрушение) или изменяющие их свойства. Их впервые обнаружили микробиологи Ф. Туорт (1915) в Англии и Ф. Д'Эрель (1917) во Франции. Бактериофаги могут поражать не только бактерии, но и грибы, простейшие, поэтому их также называют **фагами**.

По степени специфичности различают бактериофаги:

- **поливалентные**, взаимодействующие с родственными видами бактерий;
- **моновалентные**, взаимодействующие с бактериями определенного вида;
- **типовые**, взаимодействующие с отдельными типами (вариантами) данного вида бактерий.

Бактериофаги состоят из белка — капсида, имеющего один тип нуклеиновой кислоты (ДНК или РНК, одно- или двунитевой). Различают бактериофаги с длинным отростком, имеющие сокращающийся или не сокращающийся чехол, а также бактериофаги с короткими отростками, с аналогами отростков, без отростков и нитевидные (рис. 4.8).

Бактериофаги, имеющие форму сперматозоида, достигают длины до 200 нм и состоят из хвостового отростка и головки икосаэдрического типа, содержащей нуклеиновую кислоту. Хвостовой отросток имеет внутри трубку (стержень), сообщающуюся с головкой, а снаружи — чехол отростка, заканчивающийся шестиугольной базальной пластинкой с шипами, от которых отходят фибриллы (нити). В зависимости от жизненного цикла бактериофаги могут быть вирулентными (литическими) или умеренными.

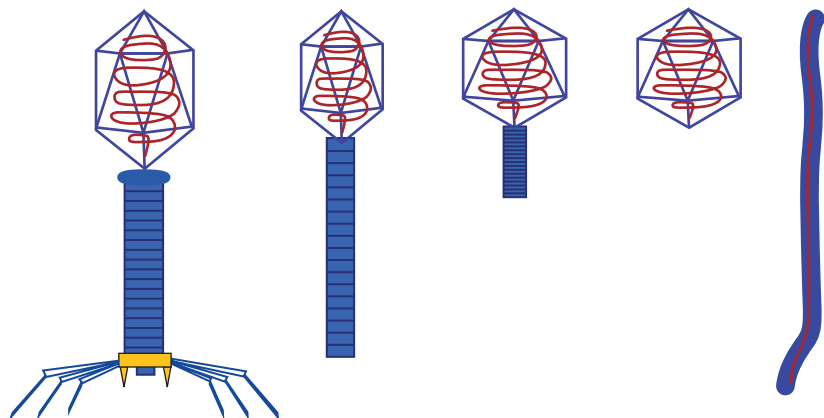


Рис. 4.8. Типы фагов

Вирулентные (литические) бактериофаги для внедрения в бактерию адсорбируются на специфических рецепторах клетки, в том числе на ЛПС, липопротеине, тейхоевых кислотах, протеинах или даже на пилиях. Специфичность рецепторов означает, что бактериофаг может инфицировать только определенные бактерии. Попав в бактерию, бактериофаги репродуцируются, формируя 200–500 фаговых частиц, и вызывают гибель бактерии (*продуктивный*, или литический, тип взаимодействия). Бактериофаги с сокращающимся чехлом хвостового отростка адсорбируются на клеточной стенке с помощью фибрилл хвостового отростка. Чехол хвостового отростка сокращается, и стержень с помощью ферментов (лизозима) как бы просверливает оболочку клетки. Через канал трубки бактериофага нуклеиновая кислота инъецируется из головки в бактериальную клетку, а капсид бактериофага остается снаружи бактерии. Нуклеиновая кислота бактериофага направляет синтез ферментов бактериофага, инактивируя ДНК и РНК хозяина. Нуклеиновая кислота бактериофага реплицируется и направляет синтез новых белков капсида. Происходит самосборка капсида вокруг фаговой нуклеиновой кислоты и формирование бактериофагов, выходящих из бактерии в результате ее лизиса, выталкивания или в некоторых случаях — почкованием.

Умеренные бактериофаги взаимодействуют с бактериями по продуктивному или интегративному типу (рис. 4.9). *Продуктивный тип* умеренного фага, как и у вирулентных фагов, заканчивается лизисом бактерий. При *интегративном типе* ДНК умеренного фага встраивается в хромосому бактерии, реплицируется синхронно с геномом бактерии, не вызывая ее лизиса (передается при делении бактерии). ДНК фага, встроенная в хромосому бактерии, называется *профагом*,

культура бактерий — *лизогенной*, а сам процесс — *лизогенией* (от греч. *lysis* — «разложение» и *genea* — «происхождение»). При лизогении в результате «выключения» фаговых генов репрессором, кодируемым одним геном фага, фаги не образуются.

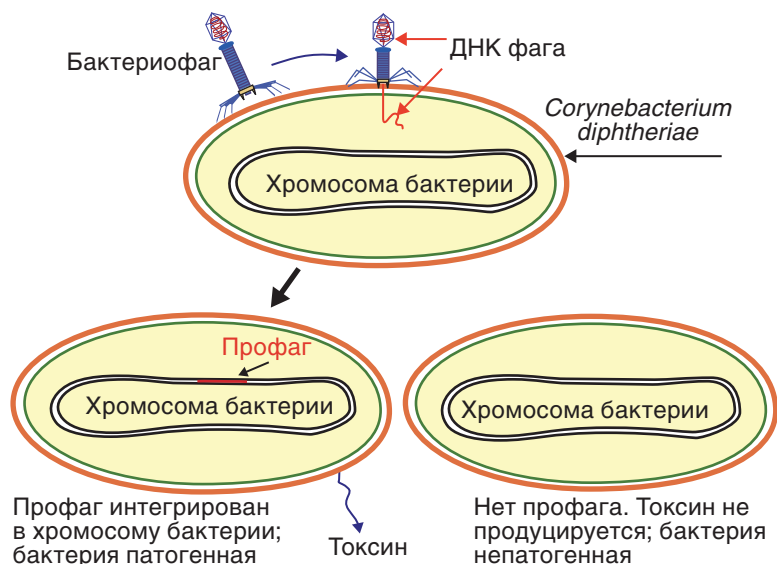


Рис. 4.9. Пути развития умеренного фага

Профаги могут спонтанно или под действием индуцирующих агентов (УФ-лучей, митомицина С и др.) дерепрессироваться, исключаться из хромосомы. Этот процесс заканчивается продукцией фагов (индукцией профага) и лизисом бактерий. Некоторые профаги придают бактерии новые свойства в результате наличия в их геноме бактериальных генов, что получило название *фаговой конверсии* (от лат. *conversio* — «превращение»). Например, наличие профага в дифтерийной палочке обуславливает ее способность продуцировать дифтерийный экзотоксин.

Бактериофаги применяют для профилактики и лечения инфекций, а также для диагностики (например, для фаготипирования в целях выявления источника инфекции). Так, с лечебной целью применяют различные бактериофаги в зависимости от вида и типа возбудителя (стафилококковый поливалентный, стрептококковый, дизентерийный поливалентный, протейный и др.). Кроме этого бактериофаги используют в генетических исследованиях.

Фаготипирование — один из методов эпидемиологического маркирования, применяется для выявления источника инфекции. Выделе-

ние бактерий одного фаговара от разных больных указывает на общий источник их заражения. Для определения фаговара (фаготипа) бактерий на чашку Петри с плотной питательной средой, засеянной чистой культурой возбудителя в виде газона, наносят капли различных диагностических типоспецифических фагов. Бактерии, чувствительные к фагу, лизируются (образуется стерильное пятно, бляшка, или так называемая *негативная колония фага*).

ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Назовите тип питательной среды, который используют для изучения биохимических свойств бактерий.
2. Назовите бактерии, для культивирования которых используют анаэробостат.
3. Назовите процесс получения бактериями энергии, при котором образуются кислоты, спирты, газы.
4. Характер роста бактерий на питательных средах определяется свойствами.
5. Назовите оптимальную температуру роста мезофилов.
6. Какая генетическая структура обеспечивает распространение антибиотикоустойчивости в популяции бактерий?
7. При каком типе взаимодействия вируса и клетки происходит образование нового поколения вирионов?
8. Назовите тип бактериофагов, которые вызывают полный лизис бактерий.
9. Отметьте объекты, на которых культивируют вирусы:
 - а) куриные эмбрионы;
 - б) лабораторные животные;
 - в) культуры клеток;
 - г) сложные питательные среды.