**Вопросы**

1.История развития микры

2.Основные св-ва прокариотных микроорган

3.Типы клеточных стенок прокариотных микроорган

4.Споры и спорогенез у прокариотных микроорган

5.Внутреннее строение прокариотных микроорган

6. Жгутики, ворсинки, пили. Способы передвижения прокариот. Методы определения подвижности у бактерий

7.Простые и сложные методы окрашивания микроорган. Практическое значение

8. Культивирование аэробных микроорган в условиях лаборатории. Методы выделения чистой культуры аэробных микроорган.

9.Химический состав бактериальной кл

10. Влияние физических факторов на микроорган, практическое значение. Стерилизация.

11. Влияние химич факторов. Дезинфекция

12. Влияние биологич факторов на микроорган. Антибиотики. Определение чувствительности микроорган к антибиотикам. Дизбактериоз и способы его устранения.

13.Внешняя форма прокариотных микроорган

14.Роль отечественных учёных в развитии микры

15. Микроскопические грибы (строение, св-ва, способы размножения).

16. Микроскопические грибы (определение, классификация, практическое значен).

17.Рост и размножение прокариот. Кривая роста

18. Нормальная и анормальная микрофлора молока. Санитарно – бактериологическое исследование молока

19. Участие микроорган в круговороте углерода в природе.

20. Участие микроорган в круговороте азота в природе

21. Морфологические и физиологич особенности риккетсий, хламидий и микоплазм.

22. Актиномицеты (св-ва, практическое значение).

23. Культивирование анаэробных микроорганизмов в условиях лаборатории.

24.Питательные среды для культивирования прокариот и эукариот. Химический состав, способы приготовления, классификация.

25. Санитарно – бактериологическое исследование воды и воздуха. Практическое значение

26. Классификация микроорган по Берги. Номенклатура микроорган. Понятие о виде микроорган

27. Ферменты микроорган (св-ва, классификация, обнаружение сахаролитич и протеолитич ферментов у микроорган).

**1.История развития микры**

5 этапов: 1. эвристический, 2. морфологический, 3. физиологический,4. иммунологический, 5. молекулярно-генетический. **1)** 4-3 в до н.э. – 16 в н.э. Гиппократ, Варрон. Джироламо впервые ввёл понятие инфекция, выдвинул теорию о возникновении инфекционной болезни. Он утверждал, что есть 3 пути: при непосредственном прикосновении; апосредовательно через предметы; на расстоянии. **2)** первые конструкторы микроскопа – братья Ганс и Захарий Янсоны. В 1590г увеличение в 32 раза; Левенгук – увеличение в 300 раз. В 1974 – эритроциты человека, лягушек и рыб; в 1675 – простейшие; в 1677 – сперматозоиды. **3)** Луи Пастер – доказал наличие жизни без кислорода – открыл анаэробных микроорганизмов, открыл процесс брожения, ввел пастеризацию. Впервые в жизни получил вакцины от холеры или пастерилёза птиц, сибирской язвы, от бешенства. Роберт Кох – открыл возбудителя туберкулёза, ввёл в практику использование плотных питат сред, разработал методы получения чистых культур микроорган, способы окрашиван микроорган. Ивановский открыл вирусы. Мечников – изучил холеру человека, туберкулёз, основоположник учения об антагонизме (противостояние между микробами). Он создал клеточную теорию иммунитета (фагоцитоз). Эрлих – теория иммунитета только гуморальная (в сыворотке крови). **4)** до 1940 г. Учёные открывают явление аллергии. Райский – понятие иммунологической памяти. Медовар – явление иммунологич толерантности – неотвечаемость иммунной системы. **5)** Развитие генной инженерии и биотехнологии. Мир микробов объедин вирусы, бактерии, эукариоты.

**2.Основные св-ва прокариотных микроорганизмов**

Размер кл 0,5-5 мкм. Внешняя форма – в виде шариков – кокки, палочки, извитые, 1 клетка. Отсутствует ядро, имеется двухнитчатая кольцевая ДНК, расположенная в цитоплазме и не отделённая от неё ядерной мембраной. Основа клеточной стенки – пептидогликан или муреин. Способность к фагоцитозу и пиноцитозу отсутствует. Дыхание у бактерий аэробное, анаэробное или факультативное анаэробное. Главное св-во – наличие плазмид – более короткие участки ДНК, не связанные с ядерными. В плазмидах записывается информация об устойчивости к дезинфектантам, к антибиотикам.

**3.Типы клеточных стенок прокариотных микроорган**

Клеточная стенка гр+ бактерий плотно прилегает к цитоплазматической мембране, массивна, ее толщина находится в пределах 20-100 нм. Для нее характерно наличие тейхоевых кислот, они связаны с пептидогликаном и представляют собой полимеры трехатомного спирта - глицерина или пятиатомного спирта — рибита, остатки которых соединены фосфодиэфирными связями. Тейхоевые кислоты связывают ионы магния и участвуют в транспорте их в клетку. В составе клеточной стенки гр+ прокариот в небольших количествах также найдены полисахариды, белки и липиды. Пептидогликан – основной компонент клеточной стенки и составляет от 50-90%. Значительно уже поры, чем у гр-, т.к. микрофибриллы пептидогликана сшиты компактно, поэтому при окраске фиксируют фиолетовый комплекс генцианвиолет и йода, не подвергаются обесвечиванию этанолом и поэтому не воспринимают дополнительный краситель фуксин, оставаясь окрашенными в фиолетовый цвет. Клеточная стенка гр- бактерий многослойна, толщина ее 14—17 нм. Внутренний слой - пептидогликан, который образует тонкую непрерывную сетку, окружающую клетку. Пептидогликан составляет от 10-10%. Пептидогликан содержит только мезодиаминопимелиновую кислоту и не имеет лизина. Внешний слой клеточной стенки - наружная мембрана - состоит из фосфолипидов, липополисахарида, липопротеина и белков. В наружной мембране содержатся белки основы (матричные), они прочно связаны с пептидогликановым слоем. Одной из их функций является формирование в мембране гидрофильных пор, через которые осуществляется диффузия молекул. Значительно шире поры, чем у гр+, т.к. микрофибриллы пептидогликана сшиты менее компактно, поэтому при окраске фиолетовый комплекс генцианвиолет и йода будет вымываться быстрее. При дополнительном нанесении фуксина окрашиваются в красный цвет. Матричные белки выполняют еще роль рецепторов для некоторых фагов. Липополисахарид (ЛПС) клеточных стенок гр- бактерий состоит из липида А и полисахарида. Токсичный для животных ЛПС получил название эндотоксина. Тейхоевые кислоты у гр- бактерий не обнаружены. Структурные компоненты клеточной стенки гр- бактерий отграничены от цитоплазматической мембраны и разделены промежутком, называемым периплазмой или периплазматическим пространством.

**4.Споры и спорогенез у прокариотных микроорган**

Споры – особый тип покоящихся репродуктивных клеток, характеризующ-ся резко сниженным уровнем метаболизма и высокой резистентностью. Бактериальная спора формируется внутри материнской клетки и наз-ся эндоспора. Споры у прокариот это не способ размножения, нужна для сохранения бактерий в неблагоприятных условиях внешней среды. Спорообразованием обладают бациллы, кластридии, споросарцина. Располагаются центрально, субтерминально (ближе к концу), терминально – на конце палочек. У бацилл диаметр споры не превышает диаметра вегетативной клетки, а у кластридий диаметр споры больше. Спора состоит из спороплазмы с нуклеоидом, белком и дипиколиновой кислотой. Спороплазма окружена цитоплазматической мембраной, к ней прилегает пептидогликановый слой, затем располагается слой кортекса, или коры. На поверхности имеется внешняя мембрана. Снаружи спора покрыта многослойной оболочкой. **Спорообразование** – процесс образования проходит ряд стадий: 1) подготовительная – завершается репликация ДНК; клетка содержит 2 или более нуклеоида, один из них локализуется в спорогенной зоне, остальной в спорангии, одновременно синтезируется дипиколиновая кислота. 2) стадия предспоры: со стороны цитоплазматической мембраны вегетативной клетки происходит врастание двойной мембраны, отделяющей нуклеоид с участком уплотнённой цитоплазмы, в результате образуется проспора. 3) образование оболочек – между мембранами проспоры образуется зачаточный пептидогликановый слой, над ним откладывается толстый пептидогликановый слой кортекса и вокруг его наружной мембраны формируется споровая оболочка. 4) заканчивается образование всех структур споры, она становится термоустойчивой, приобретает форму и занимает определённое положение в клетке.

**5.Внутреннее строение прокариотных микроорган**

**Цитоплазма** – сложная коллоидная сист, не подвижна, располог ядерный аппарат, кот не отделён от неё никакими мембранами. Сост из цитозоля – гомогенной фракции, включающей растворимые компоненты РНК, ф-ты, продукты метаболизма, и структурных элементов – внутрицитоплазматических мембран, рибосом (осуществляют биосинтез белка), аминок-т, включений, кот образ в процессе жизнедеятельности, и нуклеоида, капельки нейтральных жиров, воска, серы. В цитоплазме могут быть гранулы гликогена. Нуклеоид – ядро, сост из замкнутой в кольцо двуспиральной нити ДНК, кот рассматривают как одиночную бактериальную хромосому, или генофор. **Цитоплазматическая мембрана** – полупроницаемая липопротеидная структура, отделяющая цитоплазму от клеточной стенки - полифункциональная структура кл. Трёхслойное строение. Белково-липидный комплекс. Около 10 % сухого в-ва; 25-40 % фосфолипидов; 20-75% белка; 6% углеводов. Построена из 2 мономолекулярных слоёв, между которыми расположен липидный слой, состоящий из 2 рядов молекул липидов. Ф-ции: воспринимает всю хим инф-цию, поступающ в кл из внешн ср; явл основным осмотич барьером, благодаря кот в кл поддерживается определ осматич Р; совместно с кл стенкой участвует в регуляц роста и клет деления бактерий; в регуляции процесса репликации хромосом и плазмид; содержит большое кол-во ф-тов; с ней связаны жгутики и аппарат регулирован их движений; участвует в процессе транспорта пит в-в в кл и транспорта из кл продуктов её жизнедеятельности, различных ф-тов и экзотоксинов; в синтезе компонентов клеточн стенки и образован мезасом.

**6. Жгутики, ворсинки, пили. Способы передвижения прокариот. Методы определения подвижности у бактерий**

Жгутики – тонкие, длинные, нитевидные, белковые образования. Из белка лабеллина. Он обладает сократительной способностью. По хар-ру расположен жгутиков и их кол-ву различ: монотрихи (один полярно расположенный жгутик), лофотрихи (пучёк жгутиков на одном конце), анфитрихи (по 1 или пучёк на противоположных концах кл), перитрихи (по всей поверхности), атрихи (неподвижные). Они хар-ны для молодых культур, с возрастом или при недостатке пит ср жгутики утрачиваются. Подвижность бактер определ микро и макроскопич методами. При микроскопич готовят мазки раздавленной или висячей капли. макроскопич – методом укола, посевом на полужиткий агар. Жгутики сост из 3 компонентов: базальное тельце, крючок, спиральная жгутиковая нить. Баз тельце сост из системы особых колец. У гр- бактер их 2 пары: внешняя L и Р и внутрен S и М. У гр+ S и М. в рез-те их вращения относительно друг друга происходит вращение жгутика. Крючок – изогнутый белковый цилиндр, выполняющий ф-цию гибкого связывающего звена между базальным тельцем и жёсткой нитью жгутика. Ьазальное тельце – сложная структура, состоящая из центрального стержня и колец. Передвижение прокариот осуществляется вращательными, поступательными, сгибательными движениями. Пили. У бактер, являющихся носителями плазмид имеются нитевидные структуры белковой природы. Построены из белка пиллина. Синтез этих ворсинок находится под контролем плазмидных генов. Пили явл аппаратом конъюгации с их помощью устанавливается контакт между кл донорам и кл реципиентом. Существует 2 класса пилей – половые и общего типа (фимбрии). Секс-пили – 1,2 и более 5 на 1 кл. Ворсинки (фимбрии). Короткие нити, кол-во кот может достигать много тыс. с их помощью бактерии прикрепляются к определённым поверхностям. Для многих болезнетворных бактерий фибрии явл фактором патогенности, т.к. с их помощью бактерии прикрепляются к чуствит кл и явл ф-ром адгизии. Вызывают агглютинацию эритроцитов.

**7.Простые и сложные методы окрашивания микроорган**

**Практическое значение**. Препараты окрашивают простым и сложным методами. Простой метод. Для окраски используют какой-либо один красящий р-р. На фиксированный мазок наносят р-р одного красителя: метиленовым синим окрашив 4 мин, генцианвиолетом – 2 мин, фуксином – 1 мин. Краску смывают водой, мазок высушивают фильтровальной бумагой. На готовый мазок наносят каплю иммерсионного масла, микроскопируют. Простая окраска позволяет быстро ознакомится с морфологией бактерий. Сложные методы. Применяют несколько р-ров красителе и реактивов. Они позволяют определить морфологию бактерий, их тинкториальные особенности и наличие структурных элементов кл, что имеет важное дифференциально-диагностическое значение. Одним из методов явл окрашивание по Грамму: на фиксированный препарат на 2 мин накладывают фильтровальную бумагу, пропитанную генцианвиолетом. Бумажку снимают и наносят р-р Люголя на 2 мин. Сливают, мазок обрабатывают спиртом 30 сек, промывают водой и окрашивают фуксином 1 мин. По рез-ту окрашивания определ тип клеточной стенки. Методы окраски спор: метод Меллера: фиксированный мазок протравляют хромовой к-той 2 мин, промывают водой, высушивают фильтровальной бумагой, накладывают фильтровальн бумагу на мазок и наносят фуксин, препарат подогревают, окрашивают 7 мин, бумажку и краску сливают и обрабатывают серной к-той 5 сек, промывают водой, окрашив метиленовой синью 4 мин, промывают водой, просушивают фильтровальной бумагой. Микроскопируют: споры розово-красные, вегетативная кл – синяя. Метод Златогорова – такой же, только не обрабатыв хромовой к-той. Метод Пешкова: мазок фиксируют, окрашивают метиленовой синью с подогревом, смывают водой, докрашивают р-ром нейтрального Красного 10 сек, смывают водой, высушивают фильтровальной бумагой. Споры синие, кл – красная.

**8. Культивирование аэробных микроорган в условиях лаборатории. Методы выделения чистой культуры аэробных микроорган**

Микроорганизмы, выращенные на искусственных пит ср – микробными культурами, а получение их роста на пит ср - культивированием. Для культивирования необходимы условия: оптимальный температурный режим с учетом, к какой группе относится исследуемый вид бактерий, соответствующие пит ср, аэробиоз (или анаэробиоз). Для обеспечения постоянной оптимальной температуры служат термостаты. **Лабораторный термостат** - шкаф с двойными стенками, снаружи облицованный материалом непроводником тепла (пластик), внутренняя стенка металлическая. Между двумя металлическими стенками находится вода (или воздух), подогреваемая электричеством. От нагретой воды через внутреннюю металлическую стенку тепло поступает в термостат. Внутри имеются сетчатые полочки, на которых размещают штативы с пробирками, чашки Петри и др. Постоянная температура поддерживается при помощи терморегуляторов - при достижении температуры заданного уровня автоматически происходит отключение прибора; при снижении температуры термостат вновь включается автоматически. Помимо обеспечения температурного режима, следует учитывать тип дыхания микроорганизмов: при аэробном типе дыхания никаких дополнительных условий создавать не нужно. Выделение из смеси одного вида микроба – выделение чистой культуры. Один из первых методов предложил Пастер – метод разведения. Исследуемый материал последовательно разводят в жидкой пит среде: берут ряд пробирок с МПБ, исследуемый материал вносят в первую пробирку, перемешивают, из неё переносят во вторую и т.д. Пастер предполагал, что в последней пробирке возможен рост одного вида микроба. Но это не так. Метод Коха – применяется плотная среда – используя принцип Пастера, исследуемый материал разводят в 4-5 пробирках с расплавленным и остужённым МПА, осторожно содержимое пробирки выливают в чашку Петри и распределяют среду тонким слоем, чашку закрывают, и когда А остынет переворачивают вверх дном. Ставят в термостат. Там где концентрация микробов меньше вырастают изолированные друг от друга колонии. С обратной стороны отмечают нужную колонию, делают посевы на МПБ и МПА и вырастает чистая культура. Метод Дригальского – метод пластинчатого посева. берут 4-5 чашек Петри. Агаровую среду расплавляют в колбе, разливают в чашки и ставят в термостат вверх дном. Шпателем Дригальского или пастеровской пипеткой равномерно растирают на поверхности среды каплю. Этим же шпателем растирают на поверхности второй чашки и т.д. Помещают в термостат вверх дном. Нужную культуру засевают в МПА и МПБ. Биологический метод – исследуемый материал вводят восприимчивому жив. При наличии патогенного микроба жив гибнут, их вскрывают и делают посевы. Метод Шукевича – подвижный микроб переходит на поверхность А из конденсационной жидкости, из верхнего края выросшей культуры делают посевы и получают чистую культуру. Химический метод – к пит ср добавляют хим в-ва, кот действуют на одних убийственно, у других задерживается рост, а третьи не восприимчивы.

**9.Химический состав бактериальной Кл**

75-85% вода, 25-15% - сухой остаток. Ведущая роль принадлежит 4 осн элемента, кот получил наз органогены: кислород – 30% сухого остатка, Н – 6-8%, С-45-55%, N-8-15%. Вода в кл может быть в 2 состояниях: свободная вода, кот явл растворит для кристалич в-в и в ней происходит движение ионов; связанная вода, кот входит в состав белков, жиров и углеводов. В бактериологич кл на долю белков – 60-70%, углеводы – 20%, липиды -1-2%. Повышенное содержан липидов придаёт клетке кислотно-спирто-щелочеустойчивость. Белки – высокомолекулярные полимерные соединения, образующиеся при гидролизе аминок-ты – сложные – протеиды, простые - протеины. Ф-ции белков – гл структурный материал для всех клеточн мембран, они обеспечив двигательн ф-ции, транспорт питат в-в через мембрану. Углеводы – многоатомные спирты (манит, дульцит) и полисахариды (гликоген). Играют энергитич роль в кл. Липиды – жирные к-ты и нейтральные жиры, фосфолипиды цитоплазматич мембраны. Явл резервом кл, использ как исходн компонент для синтеза белка. Мин в-ва – 3-10% сух остатка. Микро и макроэлементы. Микробные ф-ты. Гл св-ва: специфичность и термолябильность. У микроорганизм набор ф-тов генетически закреплён и передаётся по наследству. Различ ф-ты: 1. экзоф-ты – выдел кл во внешн среду и катализир разложен сложных в-в субстрата до более простых. 2. эндоф-ты – локализуются в самой кл и участвует во внутриклеточн процессах обмена в-в. 3. конститутивные – явл постоян компонентом кл и могут быть обнаружены даже при отсутствии в среде субстрата, кот они катализируют. 4. адаптивные – вырабатываются кл только тогда, когда в среде появл соотвествующий субстрат. Различают: оксиредуктазу, трансферазу, гидролазу, лиазу, изомеразу, лигазу и киназу. Наличие ф-тов можно обнаружить с помощью спец сред.

**10. Влияние физических факторов на микроорган, практическое значение**

**Стерилизация**. Физические факторы: температура, свет, электричество, высушивание, лучистая энергия, осмотическое Р и др. Влияние температуры. Для каждого вида бактерий имеется определенная температура развития, и в зависимости от пределов этой температуры бактерии могут быть разделены на 3 физиологические группы: психрофильные, мезофильные и термофильные. Высокие и низкие температуры по-разному влияют на микробы. При низких температурах микробная кл переходит в состоянии анабиоза. Низкие температуры приостанавливают гнилостные и бродильные процессы. Высокая температура в особенности нагревание паром под давлением, губительно действует на микробов. Чем больше температура выходит за пределы максимума, тем быстрее погибнут вегетативные ф-мы микроорган. В основе бактерицидного действия высоких температур лежит угнетение ферментов: каталазы, дегидраз, - денатурация белков и нарушение осмотического барьера. Споры бактерий более устойчивы к действию высокой температуры. Применение высокой температуры является самым распространенным, удобным и надежным способом стерилизации – процесс, вызывающий гибель патогенных и непатогенных микроорган и их форм в каком-либо материале. Существуют различные методы стерилизации: физический и химический. Физический – сухим жаром, влажным жаром, фильтрованием. Сухим жаром: стерилизация сухим паром в печах Пастера (сушильные шкафы) (чистую стеклянную посуду), прокаливание (фламбирование) на огне (металлические предметы). Влажным жаром: кипячение, автоклавирование (паром в автоклавах: посуда в бумаге, перевязочные материалы), текучим паром (без давления в аппарате Коха: питательные среды), тиндализация (стерилизация в водяной бане: белок содержащие в-ва), пастеризация - погибают вегетативные формы микробов, споры сохраняются, но быстрое охлаждение препятствует их прорастанию и последующему размножению микробов. Фильтрование – жидкости. Химический- в лабораторной практике имеет ограниченное применение и сводится к консервированию, с целью предупреждения бактериального загрязнения пит ср, вакцин. Пит ср консервируют хлороформом, толуолом. Вакцины – фенолом, формалином. Для дезинфекции – фенол, хлорамин, спирт.

**11. Влияние химич факторов**

**Дезинфекция**. Химиотаксис - ответная реакция бактерийной клетки на проникающее в нее вещество. Различают положительный и отрицательный химиотаксис. Если в каплю воды, содержащую подвижные бактерии, опустить один конец капилляра, наполненного раствором пептона, через несколько секунд у отверстие капилляра скопится большое количество бактерий - положительный химиотаксис. Когда бактерии уходят от диффундирующего в воду в-ва – отрицательный химиотаксис. В малых концентрациях+ химиотаксис вызывают пептон, минеральные соли. Обратное действие - свободные кислоты, щелочи и спирты. Химические вещества могут тормозить или полностью подавлятьрост микроорганизмов. Если химическоевещество подавляет рост бактерий, но после удаления его рост вновь возобновляется, то говорят о бактериостазе, т. е. о задержке роста микроба, а не о его гибели. При бактерицидном действии химический агент вызывает гибель клеток. Бактерицидное действие химических веществ имеет огромноепрактические значение, так как этот факт учитывается при использовании химического в-ва в качестве дезинфектанта. Бактерицидные хим в-ва по действию на бактерии можно подразделить на поверхностно-активные вещества, красители, спирты, кислоты, щелочи, фенолы и их производные, соли тяжелых металлов, окислители и группу формальдегида. Поверхностно-активные в-ва изменяют энергетическое соотношение. Бактериальные клетки теряют - и приобретают + заряд, что обусловливает нарушение нормальной функции цитоплазматической мембраны. Ктаким в-вам относят мыла, жирные к-ты, моющие средства**.** Они повреждают клеточную стенку, но не проникают в клетку.

Красители обладают свойствами задерживать рост бактерий: бриллиантовый зеленый, риванол, фуксин, метионин, кот нарушают процессы клеточного деления.

Фенол, крезол и их производные сначала повреждают клеточную стенку, а затем и белки клетки. Некоторые вещества этой группы подавляют ф-цию кофермента (дифосфопиридин нуклеотида), участвующего в дегидрировании глюкозы и молочной кислоты.

Соли тяжёлых металлов (свинец, медь, цинк, серебро, ртуть) вызывают коагуляцию белков клетки. При взаимодействии соли тяжелого металла с белком образуются альбуминат металла и свободная кислота.

Ряд металлов (серебро, медь, и др.) обладают олигодинамическим действием (бактерицидной способностью). Окислители действуют на сульфгидрильные группы активных белков. К ним относятся Cl, поражающий гидролазы, амилазы, протеазы бактерий, хлорная известь, хлорамин, употребляемые в целях дезинфекции, Хорошим окислителем является йод в виде йодного раствора, который не только окисляет активные группы белков цитоплазмы бактерий, но и вызывает их денатурацию. Окисляющим свойством обладают перманганат калия, перекись водорода и другие вещества. Спирты. Спирт в 70 %-ной концентрации обладает бактерицидной активностью в отношении белков микробной клетки, которые свертываются и выпадают на поверхность микроба и уменьшают проникновение спирта в глубоколежащие слои бактерий. Кислоты и основания. Бактерицидное действие связано с изменением рН питательной среды. На практике применяются как средства уничтожения микробов на объектах окруж ср (серная, уксусная), для создания определенной зоны рН в микробиологических средах; при изготовлении и консервировании пищевых продуктов (уксусная), т.к. позволяют создать среды, неблагоприятную для развития гнилостных микроорган. Щелочи гидролизуют коллоидные системы, вследствие чего происходит гибель микробной клетки. Формальдегид присоединяется к аминогруппам белков и вызывает их денатурацию. Химические вещества (хлор, серная кислоты, гидроокись натрия, фенолы, формальдегид) широко используют для дезинфекции и химической стерилизации. Дезинфекция — уничтожение только патогенных микробов во внешней ср.

**12. Влияние биологич факторов на микроорган. Антибиотики. Определение чувствительности микроорган к антибиотикам. Дизбактериоз и способы его устранения**

Действие биологических факторов проявляется в антагонизме микробов, когда продукты жизнедеятельностиодних микробов обусловливают гибель других. Антибиотики - разновидность химиотерапевтических препаратов - хим в-ва, выделяемые некоторыми микроорган и подавляющие рост и развитие тех или иных микробов. По происхождению антибиотики можно разделить на четыре группы:1.Антибиотики, выделенные из грибов. Грибы и актиномицеты являются наиболее активными продуцентами антибиотиков. Так, Pinicillium notatum выделяет антибиотическое в-во — пенициллин, Stгерtоmyсеs rimosus — окситетрациклин (террамицин). 2.Антибиотики, выделенные из бактерий. Имеют меньшее практическое значение, т.к. эффективность их ниже, чем антибиотиков грибного происхождения. Продуценты антибиотиков - разнообразные бактерии. В большинстве это сапрофиты, обитающие в почве и обладающие ярко выраженной биохимической активностью. К ним относятся грамицидин, полимиксин и др. Большинство антибиотиков токсичны при парентеральном введении, поэтому применяются местно. З. Антибиотики животного происхождения: эритрин, выделяемый из эритроцитов различных животных, лизоцим - полисахарид, полученный из яичного белка. Клетками некоторых тканей продуцируется интерферон, угнетающий жизнедеятельность многих возбудителей вирусных инфекций. 4.Антибиотики растительного происхождения. Фитонциды — ядовитые в-ва, выделяемые растениями (лук, чеснок, алоэ, крапива и др.). Это летучие в-ва, обладающие антибактериальными св-вами в отношении многих м микроорганизмов: стафилококков, стрептококков, кишечной палочки и др. Характерным св-вом антибиотиков является избирательность их действия на микробную клетку. Антибиотики поражают лишь клетки микроорганизмов. Существуют антибиотики, действующие на немногие виды микроорганизмов (пенициллин), и антибиотики, имеющие широкий спектр антимикробного действия (тетрациклин). По механизму действия на микробов антибиотики делятся на бактерицидные, убивающие бактерий (пенициллин, стрептомицин), и бактериостатические, задерживающие рост микробов (все прочие антибиотики). По действию на микроорганизмы их можно разделить на 2 группы: нарушающие синтез клеточной стенки и ее мембран; нарушающие синтез ДНК, РНК и белка. Чувствительность микроба к антибиотикам проверяется методами: 1) серийных разведений в жидкой или на плотной среде и 2) диффузии в агар с применением дисков, содержащих антибиотики. Устойчивость микробов к антибиотикам. Антибиотик наносит лишь первое повреждение возбудителю заболевания. Окончательная ликвидация инфекционного процесса осуществляется микроорганизмом, мобилизующим защитные силы на борьбу с возбудителем болезни. Прежде чем применять антибиотик, ветврач должен хорошо изучить его св-ва, знать, при каких заболеваниях он используется. Иначе могут возникнуть последствия - токсикозы, раздражение желудочно-кишечного тракта и т. п. Не следует слишком увлекаться антибиотикотерапией, т.к. неумеренный прием этих веществ может вызвать развитие суперинфекций - заболеваний, связанных с нарушением нормальных взаимоотношений между обитателями животного организма. В этом случаи угнетается возбудитель инфекции и нормальная микрофлора организма. Начинает усиленно размножаться нечувствительная к антибиотику микрофлора, вызывая дисбактериоз, колиты и др. Ко многим антибиотикам развивается аллергия. Целый ряд микробов под влиянием антибиотиков утрачивают чувствительность к тому или иному антибиотику и образуют антибиотико-резистентные формы. У таких микробов изменяются ферментативные св-ва и антигенная структура, что приводит к усилению вирулентности. Применение антибиотиков бессмысленно. С целью предотвращения возникновения резистентных микробов при лечении необходимо комбинировать антибиотики или использовать их в сочетании с другими химическими средствами.

**13.Внешняя форма прокариотных микроорган**

По форме клеток бактерии подразделяются на три основные группы: шаровидные, или кокки, палочковидные и извитые. Кокки - имеют вид правильного шара, эллипса, боба, от взаимного расположения клеток после деления различают: микрококки, стафилококки, диплококки, стрептококки, тетракокки и сарцины. Образуются при делении в одной плоскости. Микрококки делятся в равных плоскостях и располагаются одиночно, парами или беспорядочно. Стафилококки - делятся в различных плоскостях и располагающиеся несимметричными гроздями. Диплококки - делятся в одной плоскости, образуя попарно соединенные кокки. Стрептококки - кокки, расположенные в виде цепочки. Тетракокки - делятся в двух взаимно перпендикулярных плоскостях и располагаются по 4. Сарцины - делятся в трех взаимно перпендикулярных плоскостях и образуют правильные пакеты по 8—1б клеток и более. Палочковидные - имеют осевую симметрию и цилиндрическую форму тела с округлыми или заостренными концами. Делятся на две группы: неспоровые палочки - бактерии и палочки, образующие споры, - бациллы. Палочки, у которых диаметр споры превышает ширину вегетативной клетки – клостридии из-за своей веретенообразной ф-мы. В зависимости от взаимного расположения клеток палочковидные бактерии подразделяют на одиночные и бессистемные скопления, диплобактерии и диплобациллы (располагающиеся попарно), а также стрептобактерии и стрептобациллы (формы, образующие длинные или короткие цепочки). К палочковидным формам т/ж относят коринебактерии и фузобактерии. Коринебактерии - прямые или изогнутые палочки с булавовидными утолщениями на концах. Фузобактерии — длинные, толстые, с заостренными концами палочки. Извитые - обладают спиральной симметрией. К ним относятся вибрионы, спириллы и спирохеты. Вибрионы - цилиндрическая изогнутая форма, тело представляет один неполный завиток в виде запятой. Спириллы - имеют форму спирально извитых палочек с 4-6 витками. Спирохеты - эластичные спиралевидные длинные клетки, состоящие из осевой нити (аксистиля), цитоплазмы с рибосомами и включениями, нуклеоида, мезосом, цитоплазматической мембраны и клеточной стенки. По кол-ву осевых фибрилл различ: спирохеты (более 100), кристиспиры (более 100), трепонемы (1-4), боррелии (15-20), лептоспиры (2).

**14.Роль отечественных учёных в развитии микры**

Велика заслуга в развитии микробиологии Мечникова. К числу важнейших работ в области микробиологии относятся его исследования патогенеза холеры человека, туберкулеза. Он является основоположником учения о микробном антагонизме, ставшем основой для развития науки об антибиотикотерапии. Обосновал теорию долголетия и предложил для продления человеческой жизни использовать простоквашу, которая впоследствии была названа мечниковской. Он организовал первую в России бактериологическую станцию. Развитил нового направления в микробиологии - иммунологию - учения о невосприимчивости организма к инфекционным болезням. Создал фагоцитарную теорию иммунитета, раскрыл сущность воспаления как защитной реакции организма. Гамалеи - открыл птичий вибрион (холероподобное заболевание птиц), названный в честь Мечникова его именем. Гамался впервые наблюдал и описал явление спонтанного лизиса бактерий под влиянием бактериофага, принимал активное участие в создании первой бактериологической станции в России и ввел в практику прививки против бешенства. Габричевский первым начал читать курс бактериологии в Московском университете. Выпустил учебник «Медицинская микро6иология», создал в Москве первый бактериологический институт. Изготовливал противодифтерийную сыворотку. Установил значение гемолитического стрептококка как возбудителя скарлатины, разработал и предложил вакцину против неё. Изучил кишечную палочку и се роль в патологии человека. Ценковский впервые установил близость бактерий и сине-зелёных водорослей и описал явление симбиоза; обосновал классификацию микробов, отнеся бактерий к растительным организмам; открыл возбудителя клека и разработал способы его предупреждения в сахарном производстве. Изготовил вакцины против сибирской язвы. Ивановский создал новый раздел - вирусологию. Установил возбудителя мозаичной болезни табака, получивший название фильтрующегося вируса. Виноградский разработал накопительные питательные среды, выделил и изучил азотофиксирующие и нитрифицирующие бактерии почвы, установил роль микробов в круговороте азота, углерода, фосфора, железа и серы; впервые доказал существование бактерий, самостоятельно синтезирующих органические ве-ва, что позволило открыть новый тип питания микробов — аутотрофизм. Михин открыл возбудителя лептоспироза крс, разработал методику изготовления формолвакцины против паратифа телят и противоколибактериозной сыворотки, а т/ж методику гипериммунизации лошадей при получении противосибироязвенной сыворотки. Он является автором учебника «Курс частной микробиологии для ветеринарных врачей и студентов».

**15. Микроскопические грибы (строение, св-ва, способы размножения)**

**Свойства**: почти все они аэробы; источник азота – белки, пептоны, аминокислоты, нитраты. Гетеротрофный тип питания. Вегетативное тело грибов – грибница, или мицелий, состоит из ветвящихся нитей – гифы. У высших грибов мицелий септирован (гифы разделены поперечными перегородками – септами на отдельные участки). Гифы способны расти в длину и развиваться на поверхности или внутри питательного субстрата. Различают: субстратный мицелий (врастает в питательную среду); воздушный мицелий (на конце располагаются органы плодоношения). Клеточная стенка грибов толстая, прочная содержит целлюлозу и хитин. Она многослойная, включает до 10 слоёв, поддерживает осмотическое давление в клетке, определяет избирательную проницаемость стенки и является главной защитой от неблагоприятных факторов. Цитоплазматическая мембрана трёхслойная и участвует в обмене вещ-в. В цитоплазме располагаются 1 или несколько ядер с двойной мембраной и с ядрышками, с хромосомами, митохондрии, лизосомы, вакуоли, рибосомы, гликоген. В клетках грибов отсутствует крахмал, одним из продуктов метаболизма является мочевина. У грибов различают 3 типа размножения: 1) вегетативное размножение – у неветвящихся грибов происходит почкование, у ветвящихся – образуются различные виды эндоспор (артроспоры – образуются при распаде гифов, хламидоспоры – при распаде гиф, покрыты толстой оболочкой, бластоспоры – в результате почкования с последующим отделением клетки от родителя). 2) бесполое размножение – у низших грибов формируются эндоспоры (спорангиоспоры), у высших формируются экзоспоры (конидии). 3) половое размножение – происходит слияние гаплоидных мужских и женских гамет. У низших грибов, живущих в воде, происходит слияние двух зооспор с образованием цисты. У высших грибов – слияние концов мицелия, если сливаются однополые клетки, то образуются зигоспоры, если разные клетки – ооспоры. У многоклеточных грибов после слияния разнополых клеток выявляется покоящаяся клетка – сумка - аск – в ней может образоваться 4-8 половых спор.

**16. Микроскопические грибы (определение, классификация, практическое значен)**

Грибы – без хлорофильные, низшие, эукариотические, хемоорганотрофные микроорганизмы. Различают: грибы-паразиты, сапрофиты, симбионты. Грибы по морфологическому признаку делятся на низшие и высшие. Низшие грибы имеют одноклеточный мицелий. Высшие – многоклеточный или септированный и гифы имеют перегородки – септы. Низшие грибы включают 4 класса: 1) зигомицеты (мукорозы). 2) оомицеты (фитофтороз). 3) плазмодиевые (кила капусты). 4) хитридиомицеты (рак картофеля). Высшие грибы: 1) септированные - многоклеточный мицелий или безмицелиальные гладкие грибы (дрожжи, пеницилиум). 2) базидиомицеты – созревание половых спор происходит на базидиях (съедобные ядовитые шляпочные грибы). 3) дейтеромицеты - несовершенные грибы – отсутствует половая стадия размножения (микотоксикоз, трихофития). Значение: зигомицеты используются в промышленности для получения антибиотика рамицина, аскомицеты используются как продуценты антибиотиков, ауколоидов, ферментов.

**17.Рост и размножение прокариот. Кривая роста**

**Рост** микробов – увеличение её m, происходящее в рез-те поступления пит в-в и синтеза из них сложных органических соединен. Под ростом у бакт подразумев не только рост отдельной кл, но и общее увеличение числа кл в рез-те размножения. Достигнув определённых размеров, кл прекращает свой рост и начинает размножаться. **Размножение** – способность микробов к самовоспроизведению, увеличению кол-ва особей микробной популяции. Размножаются простым поперечным делением. Типы деления бактерий. 1. клеточное деление опережает разделение, что приводит к образован многоклеточн палочек и кокков. 2. Синхронное клеточное деление, при котор разделение и деление нуклеоида сопровождается образование одноклеточных организмов. 3. Деление нуклеоида опережает клеточное деление, обуславливая образование многонуклеоидных бактерий. **Разделение** бактерий происходит 3 способами: 1) разламывание – когда кл ломается по всей ширине; 2) скользящее разделен – кл не ломается, а формируется перетяжка; 3) секущее разделение – кл ломается и складывается. Общую закономерность роста и размножения бактериальной популяции принято показывать графически в виде кривой, которая отражает зависимость логарифма числа живых клеток от времени. Эта **кривая роста** имеет S – образную ф-му и позволяет различить несколько фаз роста, сменяющих друг друга в определённой последовательности: 1) лагфаза – не наблюдается рост кл, не увеличив их кол-во, а иногда снижается; 2) фаза лагорифмического роста - удваивание кол-ва кл за определён время и этот промежуток времени наз периодом генерации. Он явл постоянным для каждого вида микроорганизма. В этот период кол-во молодых жив кл преобладает над кол-вом неживых кл. 3) стационарная фаза – число новых растущих кл = числу отмерших кл. 4) фаза отмирания – в среде преобладают токсические продукты обмена, мёртвых клеток больше, чем живых. У клеток могут наблюдаться Морфологич изменен (утрата жгутиков, гр+ красятся как гр-).

**18. Нормальная и анормальная микрофлора молока. Санитарно – бактериологическое исследование молока**

Качественный состав микрофлоры молока в момент его получения из вымени представлен молочнокислыми стрептококками и лактобактериями. В процессе жизнедеятеольности они сбраживают молочный сахар, образуя в качестве основного продукта брожения молочную к-ту. Иногда образуется углекислый газ, летучие к-ты (уксусная), ароматические в-ва (диацетил). Молочнокислые стрептококки – Streptococcus lactis, а т/ж Str. cremoris, используемый для изготовления сливок, масла и сыра. К кислотным стрептококка относят термофильный стрептококк Str. termophilus. При сбраживании молочного сахара образуется молочная к-та и небольшое кол-во ароматических в-в. Термофильный стрептококк применяется при производстве заквасок для йогурта, ряженки. **Санитарно – бактериологическое исследование молока**. Этот продукт может содержать различные патогенные микроорганизмы и служить источником заражения челов и жив. Молоко - хороший продукт, в котором микроорганизмы быстро размножаются. Степень обсеменённости молока бактериями зависит от санитарных условий содержания и кормления жив. Санитарно-биологич оценку молока выражают общим микробным числом и коли-титром, а т/ж наличием или отсутсвием патогенных бактерий и а/т к ним (кольцевая РА с молоком при бруцеллезе). Степень обсеменённости бактериями молока определяют пробой на редуктазу (р-ция восстановления – обесцвечивание метиленового синего). Коли – титр определ посевом 1 мл каждого разведения на ср Кесслера. Общее микробное число определяют последовательным разведением в 3-7 пробирок, из каждой пробирки берут по 1 мл и вносят в стерильную чашку Петри, заливают МПА, ставят в термостат.

**19. Участие микроорган в круговороте углерода в природе**

С02 входит в состав органических соединений, кот являются продуктами фотосинтеза. В воздухе его содержится немногим. Велика роль и поддержании равновесия и круговорота С02 микроорганизмов. Роль микробов в разложении клетчатки. В состав клетчатк) входит более 50 % всего органического углерода биосферы. После гибели растений она разлагается, в рез-те освобождается углерод. Разложение клетчатки происходит в аэробных и анаэробных условиях. Аэробное разложение - под влиянием актиномицеты и грибов родов аспергилл и пеницилиум. Анаэробное брожение происходит в два этапа: 1- клетчатка осахаривается, 2- сахар разлагается на спирты, молочную, масляную к-ты, водород. Два типа анаэробного брожения клетчатки - водородное и метановое, которые осуществляются бактериями - целлюлозоразрушителями. Брожение клетчатки происходит в преджелудках крс при поедании большого кол-ва зеленой массы бобовых. Разложение пектиновых в-в. Разрушение погибших растений происходит при активном участии микроорганизмов, разрушающих пектиновые межклеточные в-ва, связывающие растительные клетки. Пектиновое брожение – рода бацилла и клостридиа. Спиртовое брожение. При спиртовом брожении микроорган превращают углеводы с образованием этилового спирта и углекислоты – культуральные дрожжи. Их делят на пылевидные (клетки отдельны, изолированы) и хлопьевидные (кл склеены). Пылевидные используют для производства спирта, хлопьевидные в виноделии и пивоварении. Молочнокислое брожение. Происходит распад углеводов, а также многоатомных спиртов и белков до молочной кислоты. Молочнокислые бактерии делятся на гомоферментативные и гетероферментативные. Гомоферментативное молочнокислое брожение. Бактерии образуют только одну молочную кислоту, что обусловлено кокковыми и палочковыми молочнокислыми бактериями. Кокковые формы - род стрептоксоков: стрептококус лактис - клетки овальной формы, расположенные в виде цепочек, неподвижный, гр+. Кроме моносахаридов, сбраживает лактозу и мальтозу. Палочковые бактерии род лактобациллюс. Гетероферментативное. Его осуществляют представители родов лактобациллюс - небольшие палочки, гр+. При сбраживании глюкозы – молочная к-та, другие органич продукты и СО2. Пропионово-кислое брожение. Осуществляется бактериями рода пропионибактериум - неподвижные палочки, полиморфные, гр+, спор не образуют, анаэробы. Источниками Е для них – углеводы, органические к-ты, спирты и др в-ва. Конечные продукты брожения - пропионовая и уксусная к-ты. Бактерии используют для получения вит В12. Маслянакислое брожение бактерии из рода клостридий - крупная палочка, подвижна, гр+, образует споры, анаэроб. Брожение начинается с разложения сахаров в пировиноградную к-ту. Это брожение бывает нежелательным - прогоркание растительных масел и жиров животного происхождения. Уксуснокислое окисление -процесс, при котором этиловый спирт окисляется до уксусной к-ты под влиянием уксуснокислых бактерий - род ацетобактер - короткие палочки, неподвижные, гр-, нет спор, аэробы. Используют для производства пищевого уксуса из вина и спирта в промышленных условиях. При силосовании кормов.

**20. Участие микроорган в круговороте азота в природе**

N - важнейший биогенный элемент, входящий в состав белковой молекулы каждого живого существа. Запасы газоо6разного азота в атмосфере огромны. Однако ни растен, ни жив он не доступен, т.к. растения могут использовать для питания N минеральных соединениq, а жив в ф-ме органич соединен. Цикл превращений N в природе с участием микроорганизмов состоит из 4 этапов: фиксации атмосферного N, аммонификация, нитрификация и денитрификация. **Фиксация атмосферного N**. Способностью фиксировать атмосферный N и строить из него тело своей клетки обладают азотофиксирующие микроорганизмы. Они обусловливают повышение плодородия почвы: 2 группы микроорганизмов: свободноживущие (Clostridium pasteurianum) и микроорганизмы симбионты (род Rhisobium). Clostridium pasteurianum - полиморфные полочки, подвижные, гр+ анаэробы, образуют споры. Rhisobium - подвижны, палочки гр-, спор не образуют, при старении теряют подвижность. **Аммонификация белков**. Значительные запасы органического N сохраняются в растит и жив тканях. Когда гибнут растения и животные, компоненты их тела подвергаются действию микроорган, и азотистые соединения разрушаются с образованием аммиака - аммонификация. Процесс может происходить в аэробных и в анаэробных условиях при участии разнообразных микроорганизмов: бацилл, клостридий, актиномицетов. Расщепление белковых в-в происходит за счет протеолитических ф-тов, выделяемых микроорганизмами, получивших название гнилостных. При аэробном конечными продуктами являются: аммиак, С02, сульфаты и вода. В анаэробных- аммиак , С02, органические к-ты, индол. Аэробные аммонофикаторы: Bac. subtilis - палочка, подвижная, гр+, образует споры. Анаэробные аммонофикаторы – Cl. putrificum - палочка, подвижная, гр+. **Аммонификация мочевины**. Мочевина непригодна для азотистого питания растений, и только после разлежения её микроорганизмами она становится усвояемой. Бактерии, разлагающие мочевину – уробактерии. Мочевина превращается в аммиак и СО2. к ним относ: Bac. probates - крупная палочка, подвижная, гр+, образует споры. **Нитрификация**. 2 фазы. 1 фаза - окисление солей аммония до солей азотистой к-ты (род Nitrococcus). 2 фаза- окисление азотистой к-ты до солей азотной к-ты (род Nitrococcus). Образовавшаяся азотная к-та вступает в соединение с щелочами, в рез-те образуется селитра. Она хорошо растворяется в воде и усваивается растениями, в рез-те повышается плодородие почвы. **Денитрификация.** Обратный нитрификации. Различают прямую и косвенную денитрификацию. Прямая вызывается бактериями, широко распространенными в почве. Денитрифицирующие бактерии восстанавливают нитраты до молекулярного азота. Косвенная осуществляется чисто хим путем при взаимодействии азотистой кислоты с аминными соединениями. Роль микробов в этих процессах косвенная и сводится к образованию нитратов.

**21. Морфологические и физиологич особенности риккетсий, хламидий и микоплазм**

Риккетсии - облигатные внутриклеточные паразиты эукариот; гр- бактерии, имеющие форму коротких палочек с закругленными концами и кокков, иногда нитей. Клеточная стенка содержит пептидогликан, цитоплазматическая мембрана характеризуется высокой проницаемостью. Имеют рибосомы, нуклеоид, размножаются в цитоплазме, реже в ядре пораженных клеток хозяина поперечным делением, нитевидные формы - дроблением. Хламидии - облигатные внутриклеточные паразиты млекопитающих и птиц со сложным циклом развития. Гр- бактерии, имеющие форму кокков, В процессе развития проходят 3 стадии: элементарного тельца (шаровидной ф-мы, имеют компактный нуклеоид и ригидную 3-х слойную клеточн стенку, кот устойчива к осмат Р, к механ воздействиям, трипсину; способны склеивать эритроциты; способны выживать во внешн среде), ретикулярное тельце (сферическое образование, имеющ сетчатую структуру с тонкой клеточн ст и фибриллярный нуклеоид) и промежуточное тельце (промежуточная стадия между элементарн и ретикулярн тельцем). Элементарное тельце – инфекционная ф-ма, а ретикулярн – вегетативная (размножается путём бинарного деления внутриклеточно). Микоплазмы - мельчайшие свободноживущие прокариоты без ригидной клеточной стенки. Роль клеточной стенки у них выполняет 3-х слойная цитоплазматическая мембрана.

Основным липидным компонентом мембраны являются стерины, в цитоплазме располагаются рибосомы и нуклеоид. Микоплазмы не синтезируют пептидогликан. Обладают выраженным полиморфизмом - от мелких сферических, кольцевидных клеток до нитевидных, ветвящихся мицелиальных форм. В культурах на жидких питат ср обнаруживаются шаровидные образования, их называют элементарными телами, они являются минимальными репродуцирующими единицами. Все микоплазмы гр-. Фильтруются через бактериальные фильтры. Большинство фак анаэробы, но т/ж аблигатные аэробы. Могут расти как на бесклеточн, так и клеточн пит ср. Размнож путём бинарного поперечного деления.

**22. Актиномицеты (св-ва, практическое значение)**

Актиномицеты (лучистые грибы) одноклеточные гр+ бактерии. Их тело (мицелий) состоит из тонких и длинных гиф (нитей), способных к истинному ветвлению: гифы могут быть прямыми или спиралевидными и имеют единую с основной нитью оболочку и протопласт. На плотных средах актиномицеты образуют субстратный, врастающий в среду, и воздушный мицелий. Кроме мицеллярных встречаются палочковидные и кокковидиые формы. Строение аналогично гр+ бактериям, клеточн стенка содержит пептидогликан и не имеет, как у грибов, хитина и целлюлозы. Размножаются при помощи спор (конидий); из отдельных ветвей зрелых гиф воздушного мицелия образуются спороносцы, которые в результате сегментации превращаются в споры. В благоприятных услов они прорастают в вегетативные клетки. Гетеротрофный тип питания и аэробный тип дыхания, встречаются также и анаэробы. Отдельные виды синтезируют пигменты: розовый, желтый, синий и др. Обитают преимущественно в почве, обнаруживаются в воде, на растениях, коже и слизистых оболочках животных, разлагают органические субстраты, в том числе недоступные для др микроорган. Играют важную роль в круговороте в-в и Е, образовании почвы и ее плодородии. Многие служат продуцентами антибиотиков, витам, аминок-т, ферментов. Большинство сапрофиты, но есть и патогенные. К ним относится Actinomyces bovis — возбудитель актиномикоза крс.

**23. Культивирование анаэробных микроорганизмов в условиях лаборатории**

Микроорганизмы, выращенные на искусственных пит ср – микробными культурами, а получение их роста на пит ср - культивированием. Для культивирования необходимы условия: оптимальный температурный режим с учетом, к какой группе относится исследуемый вид бактерий, соответствующие пит ср, аэробиоз (или анаэробиоз). Для обеспечения постоянной оптимальной температуры служат термостаты. **Лабораторный термостат** - шкаф с двойными стенками, снаружи облицованный материалом непроводником тепла (пластик), внутренняя стенка металлическая. Между двумя металлическими стенками находится вода (или воздух), подогреваемая электричеством. От нагретой воды через внутреннюю металлическую стенку тепло поступает в термостат. Внутри имеются сетчатые полочки, на которых размещают штативы с пробирками, чашки Петри и др. Постоянная температура поддерживается при помощи терморегуляторов - при достижении температуры заданного уровня автоматически происходит отключение прибора; при снижении температуры термостат вновь включается автоматически. Помимо обеспечения температурного режима, следует учитывать тип дыхания микроорганизмов: при аэробном типе дыхания никаких дополнительных условий создавать не нужно. Для анаэробов необходимо исключать доступ кислорода. С этой целью используют эксикатор или анаэростат. **Эксикатор** - стеклянный сосуд с притертой крышкой. Крышка может быть сплошная или с отверстием в центре. В отверстие вставляют пробку, в неё стеклянные канюли с резиновым шлангом для подключения к насосу для выкачивания воздуха. Создание анаэробиоза можно осуществить физическим, химическим и биологическим методами. Физический – из герметично закрытого эксикатора выкачивают воздух и помещают его в термостат. Используют анаэростаты - металлический, герметически закрывающийся сосуд, снабжённый кранами для удаления воздуха и вакуум-манометром. Используются термоанаэростаты -анаэростат, нагреваемый, как термостат. Хим способ - используют эксикатор без отверстия. На дно ставят чашку Петри с хим в-вами, которые активно связывают кислород воздуха. Сверху ставят подставку с отверстиями, а на нее — пробирку или чашки Петри крышку плотно закрывают. Биологический - совместном выращивании анаэробов и аэроб.

**24.Питательные среды для культивирования прокариот и эукариот. Химический состав, способы приготовления, классификация**

Питательные среды различают по консистенции жидкие, полужидкие, плотные (твердые); происхождению - животного или растительного и синтетические питательные среды (определенного состава); по назначению: 1) универсальные; 2) специальные: а) для культивирования отдельных видов, не растущих на обычных ср; б) дифференциально-диагностические- для определения особенностей бактериальных культур (сахаролитических, протеолитических св-в); в) селективные - для выделения микробов одного вида из исследуемого материала; г) элективные среды (избирательные); д) среды накопления, в кот подавляется рост сопутствующих бактерий и беспрепятственно развивается, накапливается искомый вид, содержавшийся в небольшой концентрации. Широко применяют среды животного происхождения - МПБ, МПА, МПЖ. К любым пит ср предъявляются требования: стерильность, оптимальная рН, наличие в среде необходимых пит в-в, достаточная влажность. Приготовление универсальных пит ср. МПБ жидкая пит ср, прозрачная. Исходный материал - мясная вода: свежее говяжье мясо нарезают мелкими кусочками, заливают водой 1 : 2; экстрагируют 24 ч, варят 1,5-2 ч, выкипающее кол-во жидкости доливают водой, фильтруют в колбы, закрывают пробками и стерилизуют в автоклаве 30 мин. Добавляют пептон и NaС1. Так как мясная вода имеет слабокислую реакцию, при изготовлении МПБ бульон подщелачивают (добавляют КОН), кипятят 2-3 мин. МПА- плотная пит ср. К МПБ добавляют промытого мелко нарезанного А (безазотистое органическое в-во, получаемое из морских водорослей), расплавляют А, фильтруют через ватно-марлевый фильтр. Чтобы А не уплотнился, фильтрацию проводят в аппарате Коха или пользуются специальной металлической двустенной воронкой, внутрь которой (между стенками) заливается горячая вода. Разливают по пробиркам, стерилизуют 30 мин в автоклаве. Пробирки раскладывают в наклонном положении, оставляют при комнатной температуре, среда уплотняется, становится твердой. ПМПА готовят как МПА только добавляют меньше А. Кипятят до расплавления, фильтруют, стерилизуют в автоклаве. Приготовление специальных пит ср. МПЖ. К МПБ добавляют желатины, расплавляют её, фильтруют, разливают в пробирки, стерилизуют текучим паром. МППБ Китта - Тароцци. Готовят печеночную воду: печень крс нарезают мелкими кусочками, заливают водой 1:1, кипятят, фильтруют, стерилизуют. Её смешивают с МПБ 2:1. Кипятят, разливают по пробиркам. Перед разливом в пробирки кладут кусочки варенной печени, сверху среды заливают 1-2 мл вазелинового масла, стерилизуют в автоклаве 30 мин. Сахарный МПБ. К МПБ добавляют глюкозы, разливают в пробирки, стерилизуют текучим паром 20 мин. Сахарный МПА. К расплавленному МПА добавляют глюкозы, разливают в горячем виде, стерилизуют. Сывороточный МПБ и МПА. Сыворотку крови добавляют к МПБ в колбочках; если сыворотку добавить к расплавленному МПА - сывороточный А- разливают в чашки. Кровяной МПА. Полученную дефибринированную кровь добавляют к расплавленному МПА, перемешивают, разливают в чашки. В термостат дном вверх. Дифференциально-диагностические ср. Ср Гисса. Основой явл пептонная вода (NаС1, пептон, растворенные в дистиллированной воде), к ней добавляют углеводы и индикатор Андредэ (р-р фуксина, р-р NаОН в дистиллированной воде), фильтруют, разливают в пробирки с поплавками. Стерилизуют текучим паром. Среда Эндо. МПА расплавляют, добавляют лактозы, фуксин, обесцвеченный сернокислым Na. Всё кипятят и разливают по чашкам. Агар Левина - А Хоттингера с р-ром метиленового синего, бактериологическим щелочным эозином, лактозой, двуосновным фосфорнокислым калием. Порошок ср Левина растворяют в воде, кипятят 5 мин, разливают по чашкам. В термостат. Селективная и дифференциально-диагностическая среда Плоскирева - А, содержащий лактозу, соли желчных к-т, кальцинированную соду, бриллиантовую зелень, NаС1, индикатор нейтральный красный, для получения среды сух порошок разводят в дистиллированной воде. Висмут-сульфит-агар: МПА, содержащий цитрат висмута, сульфит натрия, дифосфат натрия, бриллиантовую зелень, глюкозу, кальцинированную соду. Сух в-во разводят в дистиллированной воде, охлаждают, взбалтывают, разливают по чашкам Петри. В термостат. Молоко - слегка подщелачивают двууглекислой содой, фильтруют, разливают в пробирки, стерилизуют текучим паром. Среды накопления. Среда Шустовой - МПА с добавлением водного р-ра натрийтиосульфата и р-ра Люголя. Растительные питательные среды. Картофельные ср - картофель очищают, нарезают, погружают в р-р двууглекислой соды на 1-2 ч, просушивают фильтровальной бумагой и помещают в пробирки Ру. На дно пробирки до перетяжки наливают глицеринизированную воду. Стерилизуют 20 мин.

**25. Санитарно – бактериологическое исследование воды и воздуха. Практическое значение**

Санитарная оценка воды выражается общим микробным числом, качественным и количественным определением загрязнённости ее бактериями группы кишечной палочки. Определение общего количества бактерий в воде. Из открытых водоемов делают последовательные разведения по общепринятой методике - 1 мл воды переносят в пробирку с 9 мл водопроводной воды, размешивают ее и 1 мл переносят в следующую пробирку. Всего 3-7 разведений. Из каждой пробирки берут по 1 мл и вносят в чашку Петри, заливают расплавленным МПА. Ставят в термостат. Кол-во колоний рассматривают под лупой. Определение коли-титра. - наименьшее количество воды, в которой обнаруживают кишечную палочку. Для определения используют бродильную пробу и метод мембранных фильтров. Бродильная проба - воду в определенных количествах высевают на среду накопления, затем при наличии роста, характерного для кишечной палочки, пересевают на дифференциально-диагностические среды. Метод мембранных фильтров чаще применяют в лабораторной практике - определенный объем воды пропускают под давлением через фильтры %3, изготовленные из нитроцеллюлозы, с последующим наложением их матовой стороной на поверхность А Эндо, выдерживанием в термостате. Затем выросшие колония подсчитывают, изучают, определяют коли-титр и коли-индекс. Исследование воздуха. Воздух является благоприятной средой для обитания микроорганизмов. Для санитарной оценки воздуха учитывают общее кол-во микробов в 1 м³ и качественный состав. Данное исследование осуществляют седиментационным, фильтрационным и аспирационным методами. Седиментационный метод оседания Коха - в чашки Петри с МПА оставляют открытыми на 5 мин в помещении, закрывают, надписывают, в термостат, подсчитывают колонии микробов.Чтобы определить микробное число в воздухе (количество бактерий, содержащихся в 1м³), его подсчитывают по формуле Омелянского: Х =/вгде Х - кол-во микробов в 1 м³ воздуха; а – кол-во выросших колоний в чашках; в - площадь чашки; Т - время, в течение которого чашка была открыта; 5 - время по правилу Омелявского; 10 - объем воздуха в литрах. Правило- на поверхности А в чашке Петри с площадью 100 см² за 5 мин из воздуха оседает такое кол-во микробов, которое находится в его 10 л. Фильтрационный метод (с использованием бактерноуловителей Дьяконова, трубок Микеля, мембранных фильтров) - пропускают через специальную систему определенный объем воздуха. Бактериоуловитель - сосуд со стеклянными бусами и с жидкой средой, закрытый пробкой. Через пробку пропущены 2 трубки: одна до дна, другая - не касается жидкости и соединена резиновым шлангом с разрежающим насосом, снабженным манометром. Пропускают воздуха через систему, содержимое сосуда взбалтывают и 1 мл жидкости вносят в чашку Петри с расплавленным А, выдерживают в термостате, подсчитывают колонии. Полученное число умножают на объем жидкой среды в сосуде, делят на количество литров пропущенного воздуха и умножают на 1000 (кол-во литров воздуха в 1м³). Мембранный метод. После пропускания воздуха через мембранные фильтры фильтрующие мембраны накладывают на поверхность А в чашке Петри, культивируют в термостате, подсчитывают кол-во выросших колоний. Полученное число делят на кол-во литров пропущенного воздуха и умножают на 1000. Аспирационный метод с использованием аппарата Кротова - цилиндрической формы металлический сосуд, внутри которого вмонтирован электромотор с центробежным вентилятором и вращающимся диском. Корпус прибора закрывается крышкой с радиально расположенной клиновидной щелью. При вращении вентилятора воздух засасывается через щель крышки, ударяется о поверхность пит ср, вращающейся на диске чашки Петри, и содержащиеся в струе воздуха бактерии оседают. Имеющийся в приборе ротаметр указывает кол-во пропущенного воздуха. Затем чашки помещают в термостат. Подсчитывают кол-во выросших колоний и микробное число воздуха.



**26. Классификация микроорган по Берги. Номенклатура микроорган. Понятие о виде микроорган**

Классификация Берги 1923г. систематика занимается всесторонним описанием видов микроорган, выяснен степени родственных отношений между ними и объединен их по Ур-ню родства в классификационные единицы или таксоны. Осн и самой низшей таксономич единицей явл вид микроорган – род, семейство, порядок, класс, отдел, царство. Вид – совокупность родственных микроорган, имеющ единое происхожден и генотип, сходных по Морфологич и биологич св-вам и обладающ наследственно закрепленной способностью вызывать в среде естественного обитания определ специфич процессы. В основе систематики лежат признаки: 1) Морфологич признаки – величина, ф-ма, хар-р взаиморасположения кл. 2) Тенкториальные св-ва - способность окрашив различн красителями, особенно гл признаком явл отношен к окрашиван по Грамму. 3) Культуральн св-ва – особенности роста бактерий на жидких и плотных средах. 4) Подвижность бактерий - подвижны и неподвижны. Подвижн подразделяются – ползающие, скользящие – передвигаются за счёт волнообразн сокращен кл; плавающ бактерии, у кот подвижность связана с наличием жгутиков. 5) Спорообразован: спорообразующ бактер – учитыв размер спор, её расположен в кл; споронеобразующие. 6) Физиологич св-ва – по способу питания – автотрофы, гетеротрофы; по азотному питанию - аминоавтотрофы, аминогетеротрофы; тип дыхания – аэробный, анаэробный, факультат анаэробы, микроаэрофильные. 7) Биохимич св-ва – способность ферментировать различные у/в; протеолитическая активность – способность разлагать белковые образован; образован индола, сероводорода, аммиака и др. 8) Чувствительность к специфическим бактериофагам. 9) Антигенные св-ва – зависят от химич состава клеточн стенки и жгутиков бактерий. 10) Химич сост клеточн стенки – учитыв содержан и состав сахаров и аминок-т.

**27. Ферменты микроорган (св-ва, классификация, обнаружение сахаролитич и протеолитич ферментов у микроорган)**

Гл св-ва: специфичность и термолябильность. У микроорганизм набор ф-тов генетически закреплён и передаётся по наследству. Различ ф-ты: 1. экзоф-ты – выдел кл во внешн среду и катализир разложен сложных в-в субстрата до более простых. 2. эндоф-ты – локализуются в самой кл и участвует во внутриклеточн процессах обмена в-в. 3. конститутивные – явл постоян компонентом кл и могут быть обнаружены даже при отсутствии в среде субстрата, кот они катализируют. 4. адаптивные – вырабатываются кл только тогда, когда в среде появл соотвествующий субстрат. Различают: оксиредуктазу, трансферазу, гидролазу, лиазу, изомеразу, лигазу и киназу. Наличие ф-тов можно обнаружить с помощью спец сред. **Сахаролитические св-ва** выявляют при посеве бактерий на дифференциально - диагностические среды с разными углеводами и индикатором. Чаще применяют среды Гисса (с индикатором Андредэ). Набор сред с разными углеводами (Г, Л, мальтоза, С, маннит, дульцит, арабиноза, сорбит и др.), стерильное обезжиренное молоко, молоко с лакмусом, молоко с метиленовым синим – пёстрый ряд. Посевы культур осуществляют по общепринятой методике бактериологической петлёй. После инкубирования в термостате учитывают рез-тат ферментации углеводов: изменение цвета пит ср (в красный цвет при индикаторе Андредэ) означает расщепление углевода и образование в среде кислых продуктов распада, а т/ж газообразные в-ва. Для определения сахаролитических св-в часто применяют полужидкие ср с углеводами и индикатором ВР (смесь водного голубого с розоловой к-той), а т/ж плотные среды с углеводами и индикатором (А Эндо, Левина, Плоскирева). Для выявления **протеолитической способности** микроорганизмов исследуемую культуру засевают в МПЖ, иногда пользуются свёрнутой кровяной сывороткой лошади, коагулированным белком куриного яйца. Посев микробов в застывшую столбиком МПЖ производят уколом, погружая иглу с культурой в глубь пит ср до дна пробирки. В тех пробирках, где под действием ферментов бактерий произойдет протеолиз желатины, среда разжижается. Микробы различных видов разжижают желатину неодинаково. Одни - в виде воронки (сибирская язва), другие - в виде чулка (стафилококки). Способность микроорганизмов гидролизовать казеин определяют на молочном А Эйкмана: Протеолиз проявляется пептонизацией казеина - вокруг колоний образуется четкая зона просветления молочного А. При посеве в молоко протеолиз выражается просветлением столбика молока, появлением осадка. Степень протеолиза и глубину расщепления белка у разных видов бактерий определяют по образованию конечных продуктов распада (индол, сероводород, аммиак и др.).