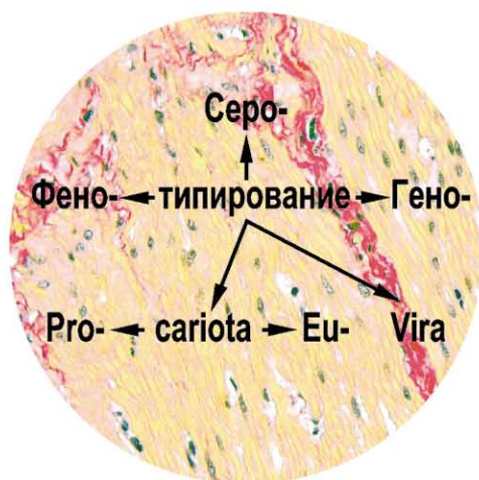




С. А. ПАВЛОВИЧ

МИКРОБИОЛОГИЯ

с микробиологическими исследованиями



ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ УЧИЛИЩ И КОЛЛЕДЖЕЙ

С. А. ПАВЛОВИЧ

МИКРОБИОЛОГИЯ

с микробиологическими исследованиями

Допущено

Министерством образования Республики Беларусь
в качестве учебного пособия для учащихся специальности
«Медико-диагностическое дело» учреждений,
обеспечивающих получение
среднего специального образования



Минск
«Вышэйшая школа»
2009

УДК 579(075.32)
ББК 28.4я723
П12

Рецензенты: цикловая комиссия по специальности «Медико-диагностическое дело» УО «Гомельский государственный медицинский колледж» (председатель *Л.В. Речиц*); профессор кафедры медицинской биологии и общей генетики УО «Гродненский государственный медицинский университет» *В.П. Андреев*

Все права на данное издание защищены. Воспроизведение всей книги или любой ее части не может быть осуществлено без разрешения издательства.

Павлович, С. А.

П12 Микробиология с микробиологическими исследованиями : учеб. пособие / С.А. Павлович. — Минск : Выш. шк., 2009. — 502 с.
ISBN 978-985-06-1498-8.

Состоит из трех разделов. В первом разделе «Общая микробиология» изложена систематика, морфология, экология, генетика бактерий и вирусов, антибиотики и механизм их действия, инфекция и иммунитет, в частности, общие механизмы функционирования иммунной системы и все реакции иммунитета, использующиеся в диагностике инфекционных болезней.

Во втором разделе «Частная микробиология» представлены видовые особенности возбудителей инфекционных болезней и их лабораторная диагностика в соответствии с предписаниями программы.

В третьем разделе «Основы клинической и санитарной микробиологии» особое внимание уделено бактериологической диагностике внутрибольничных инфекций, методам санитарно-микробиологических исследований объектов окружающей среды и качества пищевых продуктов.

Для учащихся медицинских колледжей. Будет полезно санитарным врачам, эпидемиологам, инфекционистам, иммунологам, биологам.

УДК 579(075.32)
ББК 28.4я723

ISBN 978-985-06-1498-8

© Павлович С.А., 2009

© Издательство «Вышэйшая школа», 2009

ПРЕДИСЛОВИЕ

Учебное пособие соответствует программе, утвержденной Министерством образования Республики Беларусь для специальности 2-79 01 04 «Медико-диагностическое дело».

Оно состоит из трех разделов, включающих лабораторный практикум, что позволит учащемуся освоить практические навыки, базирующиеся на полноценной научной информации.

В первом разделе «Общая микробиология» изложены систематика, номенклатура, морфология и ультраструктура, экология, физиология и генетика прокариот и вирусов. В главах «Антибиотики», «Инфекция», «Иммунитет» представлены общие механизмы функционирования иммунной системы и все реакции иммунитета, использующиеся в оценке иммунного статуса человека и диагностике инфекционных болезней.

Во втором разделе «Частная микробиология» детально описаны видовые особенности наиболее значимых в эпидемиологическом отношении возбудителей бактериальных, вирусных инфекций и микозов, а также обобщенная лабораторная диагностика риккетсиозов, хламидиозов и протозойных инвазий у человека.

Третий раздел «Основы клинической и санитарной микробиологии» объединяет два подраздела. В первом из них кратко сформулированы задачи клинической микробиологии, и с учетом произошедших изменений в клинических проявлениях классических инфекций внимание учащихся нацелено на комплексное исследование, позволяющее в сжатые сроки установить природу возбудителя заболеваний. Особое внимание уделено внутрибольничным инфекциям, возникающим у госпитализированных лиц на фоне иммунодефицитов. В подразделе «Санитарная микробиология» даны обстоятельные рекомендации санитарно-микробиологических исследований объектов окружающей среды, а также контроля обслуживающего персонала за соблюдением мер личной и общественной гигиены.

Автор выражает глубокую благодарность рецензентам за ценные замечания и пожелания, учтенные при подготовке пособия к изданию.

Автор

Раздел I. ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

МИКРОБИОЛОГИЯ КАК НАУКА И ЭТАПЫ ЕЕ РАЗВИТИЯ

Микробиология (*mikros* — малый, *bios* — жизнь, *logos* — учение) — наука о микроорганизмах, их строении и жизнедеятельности, наследственности и изменчивости, значении в природе и народном хозяйстве. Микроорганизмы могут иметь клеточное и неклеточное строение. Размеры отдельных особей микробов, имеющих клеточное строение, составляют 0,2–20 мкм (чаще 0,5–10 мкм), что позволяет легко обнаружить их под иммерсионным микроскопом. Неклеточные организмы, или вирусы (*virus* — яд), во много раз меньше. Диаметр самых больших из них, например вируса натуральной оспы, не превышает 300 нм, а у самых мелких составляет 10–15 нм. Для выявления вирусов используются электронные микроскопы.

Подразделы микробиологии. По целевой направленности и решению практических задач различают общую, техническую (промышленную), медицинскую, ветеринарную, санитарную, радиационную и космическую микробиологию. При этом *общая* микробиология изучает систематику, структурную организацию, химический состав, ферментные системы, культивирование и генетику микроорганизмов; *техническая* — использование микроорганизмов в производстве антибиотиков, ферментов, витаминов, стероидов, аминокислот и прочих биологически активных веществ, молочных и других продуктов, чая, кофе, какао, обработке каучука, хлопка, шелка, дублении кож и др.; *медицинская* и *ветеринарная* микробиология — закономерности жизнедеятельности патогенных для человека и животных микроорганизмов, механизмы инфекции и иммунитета, методы специфической профилактики и терапии инфекционных заболеваний; *санитарная* — микробную обсемененность окружающей среды, в частности выживаемость на различных объектах санитарно-показательных и патогенных микробов, их влияние на здоровье человека и естественные процессы; *радиационная* и *космическая* микробиология — влияние ионизирующих излучений и космических частиц на микроорганизмы.

Краткие сведения по истории микробиологии, вирусологии и иммунологии

Заразные болезни были известны людям уже в античном мире. В те далекие времена их называли «прилипчивыми» и, как свидетельствуют древние источники, боясь заразиться ими, больных проказой изгоняли или заключали в особые «дворы прокаженных». По той же причине более трех тысячелетий тому назад в Китае, а позже в других странах, начала применяться вариоляция, т. е. искусственная прививка против человеческой «черной оспы». Древние евреи, индусы и китайцы, а затем греки и римляне в борьбе с заразными болезнями широко практиковали изоляцию больных и гигиенические мероприятия. Так, в Древнем Риме расход воды на одного человека в 10 раз превышал норму, принятую сейчас в Европе.

Первые представления о том, что возбудителями заразных болезней могут являться мельчайшие организмы, которым итальянский ученый Т. Седильо в конце XIX в. дал название «микробы», начали формироваться в трудах крупнейших ученых-философов и произведениях поэтов и писателей Древней Греции и Рима. В частности, Тит Лукреций Кар в оде «О природе вещей» (I в. н. э.), касаясь заразных болезней, предполагал, что каждая из них зарождается «семенами», а спартанский философ Фукидид возбудителей инфекций называл *contagium animatum* или живым контагием — термином, который до сих пор применяется в медицине как синоним слова «заразность». Однако дальше умозаключений античные прорицатели пойти не смогли ввиду относительно низкого уровня техники того времени.

Условия для быстрого накопления современных знаний по этиологии инфекционных болезней появились лишь в эпоху Возрождения и промышленной революции, давших толчок развитию физики, химии, естествознанию и медицине, из которой выделилась эпидемиология как самостоятельная отрасль, призванная исследовать эпидемии. Глубже стали изучаться природа инфекционных болезней, причины их возникновения и распространения. Огромный вклад в этот вопрос внес итальянский эпидемиолог Джироламо Фрокасторо (1483—1553). С его именем связывают всеобщее признание живого болезнетворного начала (*contagium vivum*) в возникновении инфекционных болезней и выделении их в отдельную группу из много-

численных соматических заболеваний. Благодаря активной деятельности эпидемиологов XVII—XVIII вв. в Европе повсеместно стала снижаться заболеваемость натуральной оспой, проказой и чумой. Следует отметить, что полное Собрание законов Российской империи, изданное в 1728 г., содержало многочисленные разделы, касавшиеся противоэпидемических мероприятий. Примечательно, что в нем признавался заразный характер эпидемических болезней, а причиной их считался «яд», который «так прилипчив... что... может заразить и вред наносить». К концу столетия в России появился «Устав о карантинах», где регламентировались меры против заноса из Европы чумы, сыпного тифа и других эпидемических болезней. Его разработали русские врачи-эпидемиологи, среди которых история медицины навеки запечатлела деятельность почетного члена многих западноевропейских академий Данилы Самойловича (1724—1810), организатора карантинной и противоэпидемической службы на Черноморском побережье, лично участвовавшего в борьбе с эпидемией чумы в Москве в 1771—1772 гг., участника военных походов Потемкина и взятия Очакова.

Вторая половина XIX в. ознаменовалась появлением микробиологии, вирусологии и тесно связанной с ними инфекционной иммунологии. В их недрах абстрактные рассуждения гениальных мыслителей о существовании в природе *contagium* получили неоспоримые экспериментальные доказательства.

Этапы развития медицинской микробиологии. В становлении микробиологии как науки выделяют два этапа — описательный (морфологический) и физиологический.

Морфологический период берет начало от первых наблюдений голландского естествоиспытателя Антония ван Левенгука (1632—1723), который, изготовив микроскоп, увеличивающий объекты до 200 раз, сумел увидеть и описать все основные формы бактерий и простейших. В 1695 г. был издан труд «Тайны природы, открытые Антонием Левенгуком при помощи микроскопов».

После исследований Левенгука были сделаны попытки доказать роль микробов в происхождении инфекционных заболеваний. В 1840 г. в печати появилась статья Генле «О миазмах и контагиях», где автор обосновал этиологическое значение микробов в происхождении инфекционных заболеваний. Эта концепция, впоследствии названная триадой Генле—Коха, гласит: 1) предполагаемый возбудитель должен обнаруживаться при

определенной болезни и не встречаться при других заболеваниях и у здоровых людей; 2) патогенный микроб должен быть выделен из организма больного в чистом виде; 3) должна быть доказана способность микроба вызывать специфические заболевания у экспериментальных животных.

В период описательной микробиологии были установлены возбудители трихомоноза (А. Донне, 1836), фавуса (И. Шенляйн, 1839), стригущего лишая (Д. Груби, 1843), сибирской язвы (А. Поллендер, 1849; К. Давен, 1850), балантидиаза (П. Мальмстен, 1856), лямблиоза (Д.Ф. Лямбль, 1859).

Разрозненные факты описательного периода микробиологии были обобщены и приумножены основателем научной микробиологии Луи Пастером (1822—1895), с именем которого связано развитие второго, физиологического, периода микробиологии и эпохальные открытия сущности брожения (1857), невозможности самопроизвольного зарождения (1860), природы порчи пива и вина (1865), болезней шелковичных червей (1868), микробной обусловленности и заразности инфекционных болезней (1881), методов изготовления вакцин и способов предохранения от куриной холеры, сибирской язвы и бешенства (1882—1885).

Большую роль в истории развития микробиологии сыграли труды Роберта Коха (1843—1910), который разработал метод выделения чистых культур микроорганизмов на плотных питательных средах, в частности ввел в практику агар-агар, желатин, свернутую сыворотку, кусочки овощей, предложил методы окраски бактерий анилиновыми красителями, усовершенствовал микроскоп, использовал микрофотографию. Благодаря усовершенствованию техники и методики микробиологических исследований Кох установил природу сибирской язвы, туберкулеза, холеры, а его ученики и последователи к концу XIX в. открыли почти все возбудители бактериальных инфекций (К. Эберт и Г. Гаффки — брюшнотифозную палочку; Г. Шоттмюллер — палочку паратифа В; Т. Эшерих — кишечную палочку; Э. Клебс и Ф. Леффлер — возбудителя дифтерии; Ф. Леффлер и Х. Шютц — возбудителя сапа; С. Китазато — столбнячную палочку).

Этапы развития вирусологии. Основоположителем современной вирусологии является русский ученый, профессор ботаники Д.И. Ивановский (1864—1920), установивший в 1892 г., что мозаичная болезнь табака (МБТ) вызывается инфекционным агентом, фильтрующимся через фарфоровые свечи Шамберла-

на с такими мелкими порами, которые задерживали известные в то время микроорганизмы. Более того, он гениально предположил, что мельчайший агент фильтрата листьев МБТ имеет корпускулярную структуру, а не является *contagium vivum fluidum* (жидким живым началом), как утверждал в 1899 г. повторивший исследование Ивановского знаменитый голландский микробиолог Мартин Бейеринк.

В клетках пораженных МБТ листьев Ивановский сумел в световом микроскопе увидеть также кристаллы, представляющие собой скопления вируса табачной мозаики, которые в 1935 г. получил в чистом виде выдающийся американский ученый-биохимик, первый лауреат Нобелевской премии по вирусологии Уэнделл Стенли. Позже, анализируя становление вирусологии, он скажет: «В науке о вирусах имя Ивановского следует рассматривать почти в таком же свете, как имена Пастера и Коха в бактериологии».

В истории развития вирусологии можно выделить три периода.

Первый из них начался с исследований Д.И. Ивановского. Используя его методику обнаружения вирусов, Ф. Леффлер и П. Фрош в 1898 г. доказали, что яшур коров, как и возбудитель МБТ, является фильтрующимся вирусом. Это первое открытие вирусной природы широко распространенной и очень опасной зоонозной болезни парнокопытных позволило признать, что описанные в 1892–1906 гг. внеклеточные элементарные тельца Э. Пашена и цитоплазматические включения Г. Гуарниери в эпителиальных клетках содержимого везикул и пустул (пузырьков) при натуральной оспе человека — тоже вирусы. Такие же включения — колонии вирусов обнаружили в 1898–1903 гг. В. Бабеш и А. Негри в цитоплазме нейронов мозга погибших от бешенства животных.

Большее число открытий новых вирусов пришлось на первое десятилетие XX в. Так, в 1901 г. возглавляемая У. Ридом государственная комиссия США по выяснению происхождения и природы желтой лихорадки выяснила, что она передается москитами и вызывается фильтрующимся вирусом. Семь лет спустя было доказано, что вирусными болезнями являются также полиомиелит (К. Ландштейнер и Э. Поппер), денге (П. Ашбери и Ч. Крейг) и лейкоз кур (В. Эллерманн и О. Банг), который в то время считали простым «системным разрастанием кроветворной ткани». Через 3 года в 1911 г. Пейтон Раус, используя все тот же метод фильтрации вытяжки

тканей саркомы кур, привел неопровержимые доказательства наличия в ней онкогенного ультравируса, способного вызывать аналогичную опухоль у здоровых птиц. К сожалению, это великое открытие было отмечено Нобелевской премией только спустя 55 лет. Меньше времени понадобилось ждать Б.Э. Арагао и Э. Пашену (1911–1917), чтобы наконец была признана вирусная природа ветряной оспы, в кожных высыпаниях при которой закономерно выявляются элементарные тельца Арагао, всецело сходные с отмеченными выше тельцами его неутомимого соавтора, посвятившего вирусологии всю свою жизнь. Одновременно с ними Т. Андерсон и Дж. Гольдберг (1911) установили вирусную этиологию кори. Революционное открытие в 1917 г. сделал канадский ученый Ф. д'Эрелль, обнаружив фильтрующийся ультравирус, лизирующий дизентерийные бактерии, которые он назвал бактериофагом («пожирателем бактерий»). Стало очевидным, что среди вирусов имеются не только вредоносные, но и полезные для человека и животных вирусы-фаги.

Вторая волна открытий вирусов антропонозных болезней последовала за установлением в 1933 г. вирусной природы гриппа (У. Смит, К. Эндрюс и П. Лейдлоу). К началу Второй мировой войны к вирусным болезням были причислены эпидемический паротит (К. Джонсон и Э. Гудпасчур, 1934), японский летне-осенний комариный энцефалит (М. Хаяши и А.С. Смородинцев, 1934–1938), дальневосточный клещевой весенне-летний энцефалит (Л.А. Зильбер, М.П. Чумаков, В.Д. Соловьев и др., 1937), краснуха (Дж. Хиро, С. Тасака, 1938). Переломным в бурном развитии вирусологии первого периода явился 1940 г., когда Э. Гудпасчур предложил для выделения вирусов из материалов использовать куриные эмбрионы.

Второй, более высокий по своему уровню период развития в вирусологии стал возможным после того, как лауреаты Нобелевской премии Дж. Эндерс, Ф. Роббинс и Т. Уэллер завершили исследование по созданию однослойных культур клеток, а Н. Руск сконструировал электронный микроскоп, усовершенствование которого позволило в 50–60-е гг. XX в. У. Роу с сотрудниками получить в чистой культуре аденовирусы, Г. Далдорфу и Г. Сиклсу — коксакивирусы, Дж. Эндерсу и Дж. Мельнику — экховирусы, Р. Чаноку — вирусы парагриппа, Дж. Моррису — респираторно-синцитиальный вирус, а С. Стюарту и Б. Эдди — вирус полиомы, вызывающий множественные опухоли у мышей.

Начало третьего периода в вирусологии связывают с исследованиями лауреатов Нобелевской премии Х.М. Темина и Д. Балтимора, которые, выделив в 1970 г. из ретровирусов обратную транскриптазу, положили начало становлению генной инженерии. Поиски вирусной природы болезней человека и животных в этом периоде завершились выделением вирусов гепатита В (Д. Дейна, 1970) и гепатита А (С. Файнстоу и соавторы, 1974), вирионов, вызывающих заболевания у растений (Т.О. Дайнер, 1972), близких к ним по свойствам прионов (С. Прузинер, 1982) и вируса иммунодефицита человека (Л. Монтанье, Ф. Барре-Синусси, 1983; Р. Галло, 1984).

Этапы развития иммунологии. Основоположниками иммунологии, зародившейся в недрах микробиологии, являются лауреаты Нобелевской премии И.И. Мечников (1845–1916) и П. Эрлих (1854–1915), разработавшие клеточную и гуморальную теории иммунитета, которые в 50–70-х гг. XX в. получили всестороннее обоснование в исследованиях Ф. Бернета, создавшего современную клонально-селекционную теорию, согласно которой в процессе длительной эволюции в организме человека и животных сформировалась гетерогенная популяция лимфоидных клеток, способных распознавать «свое» и «чужое» в борьбе с «чужим» и продуцировать всевозможные антитела. Экспериментальное подтверждение этому дал П. Медавар, открывший иммунологическую природу отторжения аллотрансплантатов. Дж. Эдельман и Р. Портер расшифровали структуру иммуноглобулинов, а Г. Келер и Ц. Мильштейн разработали способ получения моноклональных антител на основе полученных ими гибридов. Иммунологическая роль В- и Т-лимфоцитов была установлена после открытия главного комплекса гистосовместимости, генов иммунного ответа (Дж. Снелл, Ж. Доссе, Б. Бенацераф) и теории «сетей» Н. Йерне, раскрывшей механизм регуляции иммунитета. В последние два десятилетия выяснены генетические механизмы соматической рекомбинации генов иммуноглобулинов как основы формирования разнообразия антигенраспознающих рецепторов лимфоцитов (С. Тонегава) и роль молекул МНС в презентации антигенов (Р. Цинкернагель и П. Догерти). Все эти выдающиеся открытия были удостоены Нобелевских премий.

Российская школа бактериологов, вирусологов, иммунологов. Дореволюционная российская школа микробиологов формировалась в институте Л. Пастера. Среди овечанных немеркну-

щей славой имен отметим старейшину отечественной микробиологии Н.Ф. Гамалея (1859—1949), совместно с И.И. Мечниковым создавшим в 1895 г. первую в России бактериологическую лабораторию, Оспопрививательный институт в Петрограде (1918), Центральный институт микробиологии и эпидемиологии в Москве и вирусологические лаборатории в 30-х гг. XX в.; С.А. Виноградского, открывшего нитрифицирующие и азотфиксирующие бактерии; Ф.А. Леша, впервые обнаружившего дизентерийную амёбу; П.Ф. Боровского — первооткрывателя возбудителя кожного лейшманиоза; основателя отечественной паразитологии — Е.И. Марциновского; создателей эпидемиологии Д.К. Заболотного и В.К. Высоковича; А.М. Безредки, положившего начало учению о местном иммунитете; бактериологов и иммунологов Г.Н. Габричевского, Л.С. Ценковского, И.Г. Савченко, Л.А. Тарасевича, В.И. Исаева и многих других. Большой вклад в развитие современной микробиологии внесли А. А. Смородинцев, М.П. Чумаков, П.Ф. Здродовский, Л.А. Зильбер, Р.В. Петров.

СИСТЕМАТИКА И НОМЕНКЛАТУРА МИКРООРГАНИЗМОВ

Характеристика основных таксонов. Современная систематика, или таксономия (*taxis* — расположение, порядок + *nomos* — закон), микроорганизмов построена по общепринятой в биологии иерархической схеме, объединяющей в единое целое филогенетически родственные соподчиненные группы, или таксономические категории (*taxare* — оценивать), высшими из которых являются **царства, подцарства, отделы (типы)**, последовательно подразделяющиеся на **классы, отряды, семейства, трибы (группы), роды и виды**.

В данном ряду систематических категорий основным таксоном (номенклатурной единицей) является вид (*species*). Дать ему исчерпывающее определение очень трудно. Приблизительно, под категорией *вид* подразумевают совокупность происходящей от одного предка скрещивающейся популяции, обладающей общим генофондом, экологическим единством и, если исключить некоторые виды бактерий, — репродуктивной изоляцией, т. е. между особями одного вида происходит свободный обмен генами, а между особями разных видов обмен ими невозможен или затруднен.

В составе популяций различают подвиды, штаммы и клоны. *Подвид (subspecies)* — географически или экологически обособленные популяции, в которых все или большинство особей отличаются одним или несколькими признаками от особей других популяций того же вида. *Штамм (stamm — ствол)* — культура определенного вида, выделенная из окружающей среды, патологических материалов человека и животных или полученная из музея, а *клон (klon — росток)* — генетически однородная культура микробов, происходящая из одной клетки.

В зависимости от штаммовых особенностей морфологии микроба, культуральных, биохимических, серологических (антигенных) свойств, его чувствительности к фагу и антибиотикам, степени патогенности различают несколько инфраподвидовых категорий: морфовары, культивары (биовары), хемовары, серовары, фаговары, резистенсвары, патовары и подвиды, отличающиеся друг от друга двумя-тремя особо важными признаками. Подобно виду все они отличаются генетической обособленностью и репродуктивной изоляцией.

Кроме того, каждый вид микроорганизмов характеризуется определенной величиной молярного содержания гуанина и цитозина (Г+Ц) в процентах, которая у патогенных бактерий колеблется от 23—27 % (возбудители газовой гангрены) до 62—70 % (микобактерии туберкулеза).

Большую роль в определении видовой принадлежности играет *метод гибридизации нуклеиновых кислот*, сущность которого состоит в том, что при смешении одноцепочечных ДНК родственных штаммов микробов образуется полноценная двухцепочечная гибридная молекула.

Каждый вид микроорганизмов, исключая вирусы, в соответствии с правилами биномиальной (двойной, бинарной) номенклатуры обозначается двумя латинскими словами, например *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Plasmodium vivax*, *Candida albicans*. Первое слово, начинающееся с заглавной буквы, указывает на родовую принадлежность вида, второе — конкретно определяет вид. Названия подвидов и биоваров триномиальны: *Klebsiella pneumoniae subspecies ozenae*, *Vibrio cholerae биовар eltor*. Порядки и семейства пишутся тоже прописными буквами с окончаниями *-ales* (порядок) и *-ceae* (семейство): *Rickettsiales* и *Rickettsiaceae*, *Mycoplasmatales* и *Mycoplasmataceae*. Название различным таксономическим категориям дают по имени авторов, впервые описавших типовой штамм,

либо по определяющему признаку, свойству, главному критерию вида.

Объекты изучения. Основными объектами изучения микробиологии служат прокариоты (бактерии, риккетсии, хламидии и микоплазмы), низшие эукариоты (паразитические грибки и простейшие) и вирусы.

Общая организация и размножение микробов. *Прокариоты* — клетки, не имеющие отграниченного ядра (*pro* — предшественики ядерных), внутриклеточных систем элементарных мембран и митохондрий, а некоторые — лишены также клеточной стенки. Размножаются амитотически: простым поперечным делением или почкованием.

Эукариоты, т. е. клетки с подлинными ядрами (*karyon*), подобны клеткам растений и животных. Они имеют поверхностную мембрану и внутриклеточную систему элементарных мембран, составляющих эндоплазматический ретикулум и комплекс Гольджи. В цитоплазме эукариотов содержатся оформленное ядро (ядра), митохондрии, рибосомы и ряд других органелл. Клеточная стенка эукариот имеет разный характер строения и степень выраженности, которые нередко зависят от стадии или фазы развития. Размножаются простые эукариоты половым и бесполом путем.

Вирусы — микроорганизмы неклеточной структуры, являющиеся генетическими паразитами, репродукция которых внутри клеток происходит с помощью энергообменных систем клетки-хозяина.

Классификация царства прокариот по определителю Берги

Виды прокариот идентифицируют (распознают) по определителю Д. Берги (*Bergeys Manual of Determinative Bacteriology-9*), изданному в 1994 г., в котором по структуре клеточной оболочки и отношению к окраске по методу Грама, выделено четыре основных отдела (главных таксона): 1 — *Gracilicutes* (тонкостенные, окрашивающиеся грамотрицательно в розовый цвет); 2 — *Firmicutes* (толстостенные, окрашивающиеся грамположительно в фиолетовый цвет); 3 — *Tenericutes* (лишенные оболочек); 4 — *Mendosicutes* (с дефектными оболочками), как правило, окрашивающиеся грамотрицательно.

Отделы определителя Берги, в свою очередь, подразделяются на группы. Так, грацилокуты включают 1–16-ю группы, фирмикуты — 17–29-ю, тенерикуты представлены одной 30-й, а мендозикуты — 31–39-й группами. В составе этих групп выделено более 200 родов прокариот, распределенных по семействам, подгруппам, изредка — порядкам (*Rickettsiales*) и классам (*Mollicutes*).

При этом детальному описанию видов предшествует обобщенная характеристика наиболее ярких признаков и отличий, используемых в их идентификации, как-то: 1) отношение к кислороду — аэробы—анаэробы, оксигенные—аноксигенные; 2) источникам энергии и питательных веществ — хемотробы—фотоаутоотрофы, хемоорганотрофы—фотоорганотрофы, диссимилирующие сульфат или сероредуцирующие бактерии; 3) особенности морфологии — спирохеты, палочки и кокки, эндоспорообразующие—неспорообразующие, подвижные—неподвижные палочки, почкующиеся, образующие—необразующие плоды и пр.

Подавляющее большинство прокариот в определителе Берги сапрофитические неболезнетворные виды, в частности все виды группы мендозикут. Патогенные для человека и животных виды встречаются в составе 1-й, 2, 4, 5, 6, 8, 9-й групп грацилокут, 17 — 22-й групп фирмикут и 30-й группы тенерикут.

МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Микроскопы и способы микроскопии

В микробиологических исследованиях применяются: 1) световые и электронные микроскопы; 2) методы оптической и электронной микроскопии.

Оптический микроскоп. Наиболее важной оптической частью микроскопа являются объективы, которые по способу использования и степени увеличения делятся на сухие и иммерсионные.

Сухие объективы с относительно большим фокусным расстоянием и слабым увеличением применяются для изучения микроорганизмов, имеющих крупные размеры (более 10–20 мкм), иммерсионные (*immersio* — погружение) с фокусным расстоянием 1,5–3 мм — при исследовании более мелких микробов.

При микроскопии иммерсионным объективом (ИО) $\times 90$ обязательным условием является его погружение в кедровое, персиковое или, при их отсутствии, в вазелиновое масло, показатели преломления света у масел близки предметному стеклу, на котором делают препараты (мазки). В этом случае падающий на препарат пучок света не рассеивается и, не меняя своего направления, попадает в ИО (рис. 1). Разрешающая способность иммерсионного микроскопа находится в пределах 0,2 мкм при максимальном увеличении объекта, которое может достигать 1350.

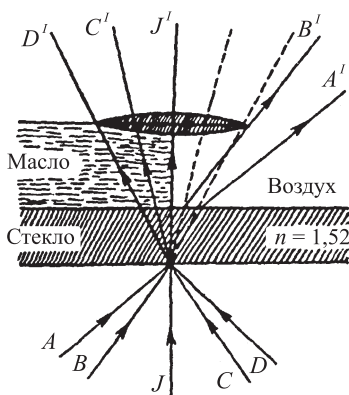


Рис. 1. Ход лучей (обозначен буквами) при прохождении через иммерсионное масло и воздух

При использовании ИО вначале центрируют оптическую часть микроскопа. Если тубус микроскопа раздвижной, то его устанавливают на длину 160 мм, затем поднимают конденсор до уровня предметного столика, открывают диафрагму, устанавливают объектив $\times 8$ и при помощи плоского зеркала освещают поле зрения. На предметное стекло с окрашенным препаратом наносят каплю масла, в которую под контролем глаза осторожно погружают объектив, затем, поднимая тубус, смотрят в окуляр и вначале макро-, а потом микровинтом устанавливают четкое изображение объекта. Закончив работу, поднимают тубус, снимают препарат, с фронтальной линзы объектива салфеткой удаляют масло и, отведя его в сторону, опускают к предметному столику.

Микроскопия в темном поле зрения. Производится при боковом освещении и обычно применяется при изучении подвижности бактерий или обнаружении патогенных спирохет, поперечник которых может быть намного меньше 0,2 мкм. Чтобы получить яркое боковое освещение, обычный конденсор заменяют специальным параболоид-конденсором, в котором центральная часть нижней линзы затемнена, а боковая поверхность — зеркальная. Этот конденсор задерживает центральную часть параллельного пучка лучей, образуя темное поле зрения. Краевые лучи проходят через кольцевую щель, попадают на боковую зеркальную поверхность конденсора, отражаются от нее и

концентрируются в его фокусе. Если на пути луча нет каких-либо частиц, то он преломляется, падая на боковую зеркальную поверхность, отражается от нее и выходит из конденсора. Когда луч встречает на своем пути микробы, то свет отражается от них и падает в объектив — клетки ярко светятся.

Источником искусственного света служит осветитель ОИ-7 или лампа 100—150 Вт в металлическом футляре. Так как для бокового освещения необходим параллельный пучок света, то применяется только плоское зеркало микроскопа.

Обычно исследование в темном поле зрения проводится под сухой системой (объектив $\times 40$). При этом небольшую каплю материала помещают на предметное стекло и накрывают покровным, не допуская образования пузырьков воздуха. На верхнюю линзу конденсора наносят иммерсионное масло, которое должно заполнить пространство между ним и предметным стеклом. При микроскопии иммерсионной системой используют специальный объектив с диафрагмой, задерживающий лучи, беспрепятственно проходящие через гомогенную среду.

Фазово-контрастная и аноптральная микроскопия. Основаны на том, что оптическая длина пути света в любом веществе зависит от показателя преломления. Это свойство используют с целью увеличения контрастности изображения прозрачных объектов, какими являются микробы, т. е. для изучения деталей их внутреннего строения. Световые волны, проходя через оптически более плотные участки объекта, отстают по фазе от световых волн, не проходящих через них. При этом интенсивность света не меняется, а только изменяется фаза колебания, не улавливаемая глазом и фотопластинкой. Для повышения контрастности изображения фазовые колебания при помощи специальной оптической системы превращаются в амплитудные, хорошо улавливаемые глазом. Препараты в световом поле зрения становятся более контрастными — положительный контраст, при отрицательном фазовом контрасте на темном фоне виден светлый объект. Вокруг изображений нередко возникает ореол.

Большей четкости изображения малоконтрастных живых микробов (некоторых вирусов) достигают в аноптральном микроскопе. Одной из важнейших его деталей является линза объектива, расположенная вблизи его «выходного» зрачка, на которую нанесен слой копоти или меди, поглощающий не менее 10 % света. Благодаря этому фон поля зрения приобретает коричневый цвет, микроскопируемые объекты имеют различные оттенки — от белого до золотисто-коричневого.

Люминесцентная микроскопия. Основана на способности некоторых клеток и красителей светиться при попадании на них ультрафиолетовых и других коротковолновых лучей света. Люминесцентные микроскопы представляют собой обычные световые микроскопы, снабженные ярким источником света и набором светофильтров, которые выделяют коротковолновую часть спектра, возбуждающую люминесценцию. Между зеркалом микроскопа и источником света устанавливается сине-фиолетовый светофильтр (УФС-3, ФС-I и пр.). На окуляр надевают желтый светофильтр (ЖС-3 или ЖС-18).

Различают собственную (первичную) и наведенную (вторичную) флюоресценции. Так как большая часть микробов не обладает собственной флюоресценцией, то они обрабатываются красителями, способными флюоресцировать (вторичная люминесценция).

Люминесцентная микроскопия отличается целым рядом преимуществ: дает цветное изображение и значительную контрастность; позволяет обнаружить живые и погибшие микроорганизмы; прозрачные и непрозрачные объекты; установить локализацию бактерий, вирусов и их антигенов в пораженных клетках организма.

Электронный микроскоп. В электронном микроскопе вместо света используется поток электронов в безвоздушной среде, на пути которых находится анод. Источником электронов является электронная пушка (вольфрамовая проволока, разогреваемая до 2500–2900 °С). Оптические линзы заменены электромагнитами. Между вольфрамовой нитью и анодом возникает электрическое поле 30 000–50 000 В, что сообщает электронам большую скорость, и они, проходя через отверстие анода, попадают в первую электромагнитную линзу (конденсор). Электронные лучи по выходу из конденсора собираются в плоскости исследуемого объекта. Они отклоняются под разными углами за счет различной толщины и плотности препарата и попадают в объективную электромагнитную линзу, снабженную диафрагмой. Электроны, мало отклонившиеся при встрече с объектом, проходят через диафрагму; отклонившиеся под большим углом — задерживаются, благодаря чему обеспечивается контрастность изображения. Линза объектива дает промежуточное увеличение изображения, которое наблюдается через смотровое окно. Проекционная линза может увеличивать изображение во много раз. Это изображение принимается на флю-

оресцирующий экран и фотографируется. В зависимости от целей исследования используют мощность от 20 до 100 000 Вт. Разрешающая способность электронных микроскопов равна 3—4 ангстрема ($10 \text{ \AA} = 1 \text{ нм}$). Для биологических объектов разрешение обычно составляет 1—2 нм.

Методики изготовления мазков-препаратов из материала (культур) и приготовление красителей

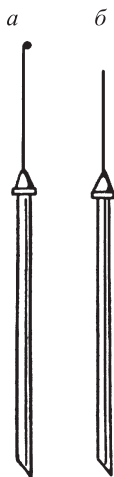


Рис. 2. Бактериальная петля (а) и бактериальная игла (б)

Мазки-препараты готовят из патологического материала (например, из гноя, мокроты, фекалий), колоний бактерий и грибов или налета их чистых культур, выросших на питательных средах в чашках Петри или пробирках. Делают мазки на предметных стеклах, как правило, бактериальной петлей (диаметр $3 \times 2 \text{ мм}$) из нихромовой проволоки, конец которой укрепляют зажимом в специальном петледержателе или вплавляют в стеклянную палочку (рис. 2). Кроме того, для изготовления мазков необходимы газовая горелка или спиртовка, ванночка с подставкой (мостик) для стекол, промывалка с водой, флакон с физиологическим раствором, красители, фильтровальная бумага, банки с дезинфицирующим раствором для обезвреживания отработанных препаратов, пипеток, материалов и рабочего стола.

Этапы приготовления мазка. 1. Исследуемые материалы и культуры микробов берут бактериальной петлей, которую стерилизуют в пламени горелки. При ее введении в пробирки и колбы стерилизуют не только петлю, но также верхнюю часть петледержателя. При этом пробирку с культурой берут большим и указательным пальцами левой руки, а бактериальную петлю держат правой, как писчую ручку. Пробку из ваты зажимают мизинцем правой руки и извлекают ее из пробирки. Край горлышка пробирки стерилизуют в пламени горелки и почти одновременно обжигают петлю, которую быстро вводят внутрь

СОДЕРЖАНИЕ

Предисловие.....	3
Раздел I. ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ	4
Микробиология как наука и этапы ее развития.....	4
Краткие сведения по истории микробиологии, вирусологии и иммунологии	5
Систематика и номенклатура микроорганизмов.....	11
Классификация царства прокариот по определителю Берги	13
Микроскопические методы исследования.....	14
Микроскопы и способы микроскопии	14
Методики изготовления мазков-препаратов из материала (культур) и приготовление красителей	18
Морфология и ультраструктура прокариот.....	21
Эубактерии.....	21
Спирохеты.....	31
Актиномицеты	32
Риккетсии.....	33
Хламидии.....	35
Микоплазмы	35
Вирусы	37
Формы существования и общая организация вирусов.....	37
Систематика вирусов	45
Семейства, подсемейства, роды и виды ДНК-вирусов	45
Краткая характеристика основных структур и свойств ДНК-вирусов.....	47
Семейства, роды и виды РНК-вирусов.....	48
Краткая характеристика основных структур и свойств РНК-вирусов	51
Основы экологии микроорганизмов	53
Распространение микробов в биосфере	53
Типы взаимоотношений микроорганизмов в биоценозах.....	55
Симбиотическая микрофлора здорового человека.....	58
Нормальная микрофлора различных отделов организма человека.....	59
Медико-биологическое значение нормальной микрофлоры человека	61
Физиология микроорганизмов	63
Метаболизм микроорганизмов	63
Ферменты микроорганизмов.....	64
Действие факторов окружающей среды на микроорганизмы.....	65
Стерилизация и асептика	67
Дезинфекция и антисептика	71

Питание и размножение бактерий	73
Потребность в биогенах и классификация бактерий по типам питания	74
Питательные среды	76
Фазы размножения бактерий	81
Культивирование бактерий	82
Способы посева бактерий и патологического материала	85
Выделение чистых культур бактерий	87
Определение биохимических свойств бактерий	90
Методы идентификации нуклеиновых кислот	92
Особенности культивирования риккетсий	94
Культивирование и репродукция вирусов	94
Культуры клеток и способы их приготовления	94
Стадии и фазы репродукции вирусов	97
Фаги (бактериофаги)	102
Классификация, форма и строение фагов	102
Свойства фагов	103
Фазы взаимодействия вирулентных фагов с бактериями	104
Умеренные фаги	107
Происхождение и распространение фагов	108
Получение и практическое применение фагов	109
Генетика бактерий	112
История становления	112
Изменчивость бактерий	117
Мутации и репарации у бактерий	121
Рекомбинационная изменчивость	125
Рекомбинации у бактерий	125
Конъюгация и конъюгативные плазмиды	126
Общая характеристика плазмид	126
Трансдукция	129
Трансформация	132
Вирусные рекомбинации и вирусные рекомбинанты	134
Генная инженерия	136
Конструирование генов	137
Передача и клонирование генов	138
Антибиотики	139
Механизм антимикробного действия антибиотиков	140
Методы определения лекарственной чувствительности бактерий	144
Противовирусные препараты	147
Инфекция (основные понятия)	148
Свойства патогенных микроорганизмов	149
Методы изучения инфекционного процесса	152

Резистентность и восприимчивость макроорганизма	156
Классификация инфекционных болезней	157
Понятие об эпидемическом процессе и его формах	160
Иммунитет (основы иммунологии)	161
Конституциональные факторы естественной резистентности.....	166
Тканевые факторы.....	166
Гуморальные факторы.....	170
Факторы приобретенного иммунитета	176
Антигены	176
Иммунная система.....	182
Структура, формирование и происхождение клеток иммунной системы.....	183
Строение и биологическая роль органов иммунитета.....	188
Антитела (иммуноглобулины)	191
Свойства иммуноглобулинов.....	194
Антителообразование	195
Иммунный ответ	200
Цитокины.....	202
Аллергия (гиперчувствительность).....	204
Типы аллергических реакций.....	205
Приготовление и применение микробных аллергенов.....	210
Иммунный статус человека	212
Принципы иммунотерапии	214
Иммунные сыворотки.....	215
Вакцины.....	219
Традиционные вакцины	220
Вакцины нового типа.....	222
Реакции иммунитета и их практическое использование	225
Клеточные реакции иммунитета	225
Серологические реакции иммунитета.....	227
Традиционные серологические реакции	228
Реакции с использованием меченых антител	242
Раздел II. ЧАСТНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ	246
Возбудители бактериальных инфекций	246
Пиогенные кокки	246
Особенности лабораторной диагностики гонореи и бленнореи.....	250
Особенности лабораторной диагностики менингококковых инфекций.....	252
Особенности лабораторной диагностики стафилококковых инфекций.....	253
Особенности лабораторной диагностики стрептококковых инфекций.....	255

Общая характеристика семейства энтеробактерий и вызываемых ими кишечных инфекций	258
Энтеропатогенные эшерихии эпидемических эшерихиозов	258
Сальмонеллы тифопаратифов и острых гастроэнтеритов	262
Возбудители бактериальной дизентерии.....	270
Клебсиеллезы	274
Протеи и провиденция.....	278
Холерный вибрион.....	281
Возбудители чумы и иерсиниозов	288
Возбудитель туляремии	294
Возбудители бруцеллеза	298
Возбудители коклюша и паракоклюша	303
Возбудитель инфлюэнцы.....	306
Кампило- и хеликобактериозы	307
Возбудитель сибирской язвы	310
Коринебактерии дифтерии	316
Возбудитель листериоза	321
Возбудители туберкулеза	323
Возбудители газовой гангрены.....	330
Возбудитель столбняка.....	335
Возбудитель ботулизма.....	338
Возбудители пищевых токсикоинфекций.....	341
Возбудители спирохетозов	343
Возбудитель сифилиса	343
Возбудители возвратных тифов.....	351
Возбудители лаймборрелиоза	355
Возбудитель лептоспироза	356
Общая характеристика риккетсий и риккетсиозов.....	359
Хламидии, хламидиозы и их лабораторная диагностика.....	361
Возбудители микоплазмозов.....	363
Лабораторная диагностика вирусных инфекций.....	365
Микроскопические способы обнаружения вирусов.....	366
Выделение вирусов из материалов	369
Серотипаж вирусов	373
Серодиагностика вирусных инфекций.....	376
Возбудители вирусных инфекций	377
Вирус иммунодефицита человека.....	377
Ортомиксовирусы гриппа	381
Парамиксовирусы парогриппа, эпидемического паротита, кори и РС-инфекции	386
Аденовирусные инфекции	388
Вирусы простого герпеса, ветряной оспы, опоясывающего герпеса и цитомегалии	390

Вирусы гепатитов.....	394
Пикорнавирусы полиомиелита, Коксаки- и ЭКХО-инфекций.....	400
Лиссавирус бешенства	404
Онкогенные вирусы	407
Природа онкогенных вирусов.....	407
Медленные инфекции человека и животных.....	411
Паразитические грибки и методы лабораторной	
диагностики микозов человека	416
Лабораторная диагностика.....	419
Основные возбудители микозов человека	422
Возбудители кератомикозов и эпидермомикозов	422
Возбудитель отрубевидного лишая	423
Возбудители эпидермофитии	423
Возбудители трихофитии	425
Возбудитель фавуса	426
Возбудители микроспории.....	427
Возбудители субкутанных и глубоких микозов.....	428
Возбудитель хромомикоза.....	429
Возбудитель споротрихоза	430
Возбудитель кокцидиоидоза.....	431
Возбудитель гистоплазмоза	432
Возбудитель криптококкоза	433
Паразитические простейшие и методы лабораторной	
диагностики протозойных инвазий человека	434
Лабораторная диагностика протозойных инвазий.....	436
Паразитотропные препараты в лечении протозойных	
инвазий.....	439
Раздел III. ОСНОВЫ КЛИНИЧЕСКОЙ И САНИТАРНОЙ	
МИКРОБИОЛОГИИ.....	440
Клиническая микробиология и ее задачи	440
Микробиологические методы исследования материалов	
больных	441
Исследование крови при бактериемии, фунгемии, паразитемии,	
вирусемии	442
Исследование спинномозговой жидкости при менингитах	
и менингоэнцефалитах	442
Исследование микрофлоры в мокроте при трахеобронхитах	
и пневмониях	443
Исследование микрофлоры в материалах желудочно-	
кишечного тракта	444
Исследование микрофлоры мочевыводящих путей.....	446
Забор материала от умерших людей	447
Внутрибольничные инфекции.....	447

Клинико-эпидемиологические особенности и лабораторная диагностика основных оппортунистических инфекций	450
Кандидоз	450
Пневмоцистоз.....	452
Аспергиллез	453
Легионеллез	455
Нокардиозы	456
Серрациозы.....	457
Акинетобактерная инфекция	459
Синегнойная инфекция	459
Бактероидозы	461
Санитарная микробиология и ее задачи	463
Санитарно-микробиологическое исследование воды	466
Основные виды санитарно-показательных микроорганизмов фекального загрязнения воды	467
Определение патогенных энтеробактерий и энтеровирусов в воде	473
Санитарная микробиология почвы.....	476
Санитарно-показательные микроорганизмы почвы	476
Определение основных видов патогенных бактерий почвы	481
Санитарно-микробиологическое исследование воздуха	481
Методы определения ОМЧ в воздухе.....	483
Определение основных видов патогенных бактерий воздуха	485
Микробиологические критерии качества пищевых продуктов.....	487
Санитарно-микробиологический анализ качества пищевых продуктов	488
Основные группы микроорганизмов, которые определяются в пищевых продуктах для оценки их безопасности	488
Санитарно-микробиологическое исследование поверхностей.....	492
Метод смывов с предметов.....	493
Метод отпечатков поверхностей предметов на плотные среды.....	494
Обследование персонала при контроле соблюдения им правил общественной гигиены и на микробоносительство.....	494

Учебное издание

Павлович Сергей Александрович

МИКРОБИОЛОГИЯ

с микробиологическими исследованиями

Учебное пособие

Редактор *А.В. Новикова*. Художественный редактор *В.А. Ярошевич*. Технический редактор *Н.А. Лебедевич*. Корректор *Е.З. Липень*. Компьютерная верстка *Н.В. Шабуни*.

Подписано в печать 07.07.2009. Формат 84×108/32. Бумага офсетная. Гарнитура «Нимбус». Офсетная печать. Усл. печ. л. 26,46. Уч.-изд. л. 27,28. Тираж 1200 экз. Заказ 2229.

Республиканское унитарное предприятие «Издательство “Вышэйшая школа”».
ЛИ № 02330/0494062 от 03.02.2009. Пр. Победителей, 11, 220048, Минск.
<http://vshph.com>

Открытое акционерное общество «Барановичская укрупненная типография».
ЛП № 02330/0131659 от 02.02.2006. Ул. Советская, 80, 225409, Барановичи.