18.01.23.

05 група

Методи мікробіологічних досліджень.

Тема: Загальні поняття про мікробіологію.

Мікробіологія – наука про найменші (невидимі неозброєним оком)живі організми – мікроби. Звідсіля і назва науки, що вивчає особливості їх будови та життєдіяльності (грец. mikros — малий, bios — життя, logos — вчення).

До цієї групи організмів входять одноклітинні бактерії, що розмножуються простим поділом, фільтруючі віруси і бактеріофаги, а також деякі представники близьких до бактерій мікроорганізмів (актиноміцети та деякі гриби).Особливу увагу мікробіологічна наука приділяє дослідженню найчисленнішої групи мікроорганізмів – бактеріям, що є основним предметом її вивчення.

Роль мікроорганізмів у перетворенні різноманітних речовин у природі надзвичайна, оскільки в результаті їх життєдіяльності відбувається перетворення органічних і мінеральних речовин у ґрунті, що має важливе значення для розвитку зелених рослин. У ґрунті та природі в цілому на долю цих найменших живих організмів припадає переважна частина біохімічних перетворень. Всі процеси у ґрунті знаходяться у тісному зв’язку з ґрунтовою мікрофлорою.

У безупинному циклі перетворень: мінеральні речовини — зелені рослини — тварини — мікроорганізми — мінеральні речовини — вирішальна роль належить мікробам. Вони зумовлюють кругообіг речовин і енергії в природі. З життєдіяльністю мікроорганізмів пов'язане утвореннядеяких руд, кам'яного і бурого вугілля, торфу та інших корисних копалин.

Винятково важливе значення мають мікроорганізми, що їх використовують в різних галузях народного господарства, наприклад у таких необхідних для життя людини процесах, як випікання хліба, виробництво молочнокислих продуктів, ферментів, кормового білка, амінокислот, вітамінів, антибіотиків, гормонів, вакцин та інших лікарських препаратів, органічних кислот, стимуляторів росту,

бактеріальних добрив, засобів захисту рослин тощо. Мікробіологічні процеси лежать в основі виробництва спирту, вина, пива, силосування кормів для тварин та ін.

Важко уявити розвиток мікробіології без тісного зв'язку з генетикою. Мікроорганізми виявились чи не найкращими біологічними моделями для вивчення закономірностей спадковості й мінливості. Генетичний апарат мікробної клітини й механізм його функціонування у часі мають безперечно великі переваги для дослідження порівняно з вищими організмами. І немає нічого дивного в тому, що відкриття цілого ряду загальнобіологічних закономірностей (матрична теорія синтезу білка, розшифрування генетичного коду, штучний синтез гена тощо) пов'язане з вивченням генетики, фізіології та біохімії процесів життєдіяльності мікроорганізмів.

Застосування досягнень сучасної мікробіології в різних галузях народного

господарства через перспективність, різноманітність і специфічність спричинило утворення низки самостійних дисциплін, а саме: загальної, сільськогосподарської, медичної й ветеринарної, технічної, або промислової, водної, геологічної і космічної мікробіології. Бурхливо розвивається як самостійна дисципліна загальна і спеціальна вірусологія.

1. Історія розвитку мікробіології

Мікробіологія, як і будь-яка інша наука, має свою історію. Багато тисячоліть налічує історія людської культури. Вже в творіннях стародавніх цивілізацій – єгипетської, вавілонської, грецької, римської, китайської – знаходимо зародки біологічних наук, початки наївних примітивних, але досить конкретних медичних знань. Отже, справедливо вважають, що медицина така ж стара, як і саме людство. Мікробіологія ж є порівняно молодою наукою. Вона налічує трохи більше 100 років. Однак ще за довго до відкриття мікробного світу людям були відомі процеси, що викликали мікроорганізми. Тривалий час людина жила в оточенні невидимих істот, споживала продукти їх життєдіяльності (випечений хліб, кисле молоко, вино, пиво). Ці істоти спричинювали захворювання, але людина навіть не підозрювала про їх існування, бо вони мали надто малі розміри.

Навіть видатний лікар Древньої Греції Гіппократ вважав, що в повітрі під час епідемій містяться особливі хвороботворні "міазми" – випаровування, які можуть поширюватися на великі відстані. На думку Лукреція Кара, кожна інфекція має особливе "насіння". Лише під час страшної епідемії чуми в XIV ст. з'явилися перші уявлення про заразні хвороби. У 1374 р. у Венеції був виданий наказ про ізоляцію людей, товарів та кораблів на 40 днів (quarantina) з метою запобігання поширенню чуми, звідки і пішов термін – карантин.

- **Морфологічний** період

Думки про присутність в природі невидимих істот виникала у багатьох дослідникі. Ще в VI віці до н. з. **Гіппократ**, в XVI віці н. э. **Джіраламо Фракастро**та на початку XVII століття**Афанасій Кірхер**висловлювали припущення, що причиною заразних хвороб є невидимі живі істоти.

Розвиток мікробіології як науки тісно пов’язаний з мистецтвом шліфування скла й алмазів та виготовленням перших мікроскопів. У 1590 р. в Голландії в м. Міддельбурзі шліфувальники скла брати **Ганс і Захарій Янсени** сконструювали

прилад зі збільшувальних скелець, а в 1610 р. Г. Галілей виготовив перший мікроскоп.

Однак першою людиною, яка заглянула у таємничий невидимий світ живих істот, був голландський торговець полотном, сторож судової палати **Антоній Левенгук** (1632-1723). У вільний від роботи час він шліфував лінзи, виготовляв з них лупи, які давали збільшення в 300 разів. Годинами просиджуючи зі своїми лупами та розглядаючи все, що потрапляло під руки, Левенгук на 41 році життя почав робити дивовижні відкриття. Він вперше описав еритроцити, сперматозоїди, будову м'язів, замалював справжніх живих мікробів, їх основні форми. І досить швидко науковий світ з великим подивом дізнався про відкриття голландця. Свої спостереження Левенгук описував у спеціальних листах, які регулярно протягом 50 років відсилав до Лондонського наукового товариства, на чолі якого стояв тоді знаменитий **Роберт Гук**. Всього було відправлено 120 таких листів. Здивування, яке викликали листи Левенгука, було дійсно величезним. Вони відкривали новий, фантастичний, ніким не бачений і незнаний світ живих істот. Сам Левенгук називав їх ―живими звірятами‖ і писав, що в роті людини їх більше, ніж людей у всьому англійському королівстві. Ці чудові відкриття неука-природознавця послужили тим зародком, з якого пізніше виросла й сформувалася наука про бактерії. Саме з того часу і починається перший, морфологічний, період в історії розвитку мікробіології.

Більшу частину своїх спостережень він опублікував у 1695 р. у книжці

«Таємниці природи, відкриті А. Левенгуком».

Відкриття А. Левенгука були настільки несподіваними і навіть фантастичними, що протягом майже 50 наступних років викликали загальний подив. Перебуваючи в Голландії в 1698 р., Петро І відвідав А. Левенгука і ознайомився з його дослідами. З цієї поїздки цар привіз у Росію подарований А. Левенгуком мікроскоп. У 1716 р. у майстернях при дворі Петра І виготовлено перші в Росії мікроскопи.

Однак, користуючись примітивними мікроскопами тих часів, важко було встановити різницю між окремими видами бактерій. Основоположник наукової систематики живих організмів Карл Лінней навіть взагалі відмовився їх класифікувати і дав їм загальну назву ―хаос‖.

У зв'язку з цим тривалий час (майже до середини XIX ст.) мікробіологія мала в основному описовий характер. Тому перший період розвитку цієї наукиувійшов в історію під назвою ***морфологічного періоду*** і був початком нагромадження фактичного матеріалу.

- **Фізіологічнийперіод**

Значний вклад у вивчення мікроорганізмів вніс **Мартин Тереховський**(1740-1796), який вперше застосував експериментальний метод для вивчення умов розмноження мікробів і впливу на них різноманітних факторів. Тереховський встановив, що для розвитку мікроорганізмів потрібен кисень, що мікроби перед поділом ростуть. Він робить висновок, що мікроби є справжніми живими істотами, і першим доводить неспроможність теорії про довільне зародження життя, встановив, що мікроорганізми,як і інші організми, мають обмін речовин і енергії, а їх анатомічні

структура подібна до будови клітин інших живих істот. Серйозна спроба провести суто наукову систематику бактерій було зроблено в 1773 р

датськимнатуралістом**Отто Мюллером**. Він описав 379 видів інфузорій та мікробів. Ще більш чітку й повну класифікацію створив **Філіп Еренберг**, який вперше ввів такі терміни як ―бактерія‖, ―спірила‖, ―спірохета‖. В наш час всі мікробіологи світу користуються класифікацією Девіда Берлі.

ІІ період розвитку мікробіології – фізіологічний, тісно пов'язаний з іменем **Л. Пастера** (1822—1895), який є основоположником наукової мікробіології. Він довів неможливість самозародження життя, запропонував методи стерилізації (повного знищення мікроорганізмів) та пастеризацію (більш м'яку стерилізацію), а також науково обґрунтував роль мікроорганізмів у виникненні захворювань. Л. Пастер довів, що бродіння та гниття спричинюють мікроорганізми, що дозволило іншим ученим, зокрема **Лістеру** та **Пирогову**, розробити методи асептики та антисептики. У 1857 р. він довів, що спиртова ферментація є результатом життєдіяльності дріжджів. У 1860 р. встановив, що мікроби поширені всюди, що з повітря вони можуть потрапляти до різних настоїв, на різні продукти і спричинювати їхнє гниття.

Л. Пастер відкрив анаероби, обґрунтував явище атенуації (ослаблення патологічних властивостей збудника), у 1881-1885 рр отримав вакцину проти сибірки та сказу, що відіграло величезну роль у боротьбі з цими тяжкими хворобами.

Майже водночас з відкриттям Л. Пастера з'явилися відомі праці видатного німецького мікробіолога **Роберта Коха**(1843—1910). Відкриття збудників сибірки, туберкульозу, холери належать саме йому.

Способи дезінфекції, запропоновані **Р. Кохом**, і тепер успішно використовуються в медичній практиці. Докази про патогенність того чи іншого мікроба дістали назву тріади Генле—Коха, а відкритий у 1882 р. збудник туберкульозу названо паличкою Коха. В 1905 р. Р. Коху присуджено Нобелівську премію за досягнення в розвитку медицини.

Всьому світові відоме ім'я **Д.Й. Івановського** (1864—1920), видатного природознавця, засновника сучасної вірусології. В 1892 р., вивчаючи мозаїчну хворобу тютюну, Д. Й. Івановський відкрив раніше не відомі субмікроскопічні істоти, які одержали назву вірусів. Тоді багато вчених вважали, що бактерії є найменшими і найпростішими організмами, і що саме вони стоять на межі живої і неживої природи. У 1887 р. за рекомендацією відомих вчених А. М. Бекетова і А.С. Фамінцина було відряджено талановитого студента Петербурзького університету Д. Й. Івановського на південь України для вивчення мозаїчної хвороби тютюну. Досліджуючи цю хворобу, яка завдавала величезних збитків тютюновим плантаціям, молодий вчений відкрив, що збудник цієї хвороби проходить крізь бактеріальні фільтри. Отже, було відкрито організм, у сотні й тисячі разів менший від відомих на той час найменших бактерій.

- **Імунологічний період**

Вивченням функціонування імунної системи, а також розробкою засобів і методів імунологічної діагностики, профілактики і лікування інфекційних і неінфекційних хвороб займається імунологія — наука про імунітет. Імунологія як наука сформувалася лише наприкінці XIX ст. Основоположниками її можна вважати

І.І. Мечникова, Л. Пастера і П. Ерліха. Власне із зародження науки імунології і пов’язаний імунологічний період в мікробіології.

І.І. Мечников (1845-1916). З його ім'ям пов'язана розробка теорії боротьби організму людини і тварини з хвороботворними мікробами, які потрапили до нього — теорія фагоцитарного імунітету. «Хвороба — битва в людському організмі між двома великими юрмами, — писав І.І.Мечников, — незліченною юрмою мікробів — збудників хвороби і такою ж юрмою рухливих клітин крові — лейкоцитів, що здатні захоплювати мікробів і перетравлювати їх. Від результатів цієї битви залежить перебіг хвороби, лікування й одужання організму». Своїми класичними працями І.І. Мечников зробив великий внесок у розробку вчення про антагонізм мікробів. Відкриття і теоретичне обгрунтування цього явища стало основою для промислового виробництва антибіотиків. І.І.Мечников є також автором відомої теорії боротьби з передчасним старінням людського організму. «Автоінтоксикація (самоотруєння) гнильними бактеріями, які паразитують у товстих кишках, безперечно, є однією з найважливіших причин затвердіння артерій і ранньої старості», — писав І.І.Мечников. Для боротьби з передчасним старінням він рекомендував вживати молочнокислі бактерії як антагоністи гнильних мікробів.

Водночас із І.І.Мечниковим проблемою несприйнятливості організму до інфекційних захворювань займався відомий німецький лікар, мікробіолог **П. Ерліх**. Він створив теорію гуморального імунітету, довкола якої точилася вперта і тривала боротьба думок, що поділила вчених на два табори — прихильників П. Ерліха та прихильників І.І. Мечникова. Завдяки широкій дискусії та численним дослідженням було встановлено, що несприйнятливість до інфекційних хвороб залежить як від клітинних, так і від гуморальних факторів. Обидві теорії виявились правильними. 1908 р. за розробку вчення про імунітет І.І.Мечникову і П. Ерліху було присуджено Нобелівську премію.

Учень Л. Пастера, найближчий співробітник і друг 1.1. Мечникова, **М. Ф. Гамалія** (1859-1949) заснував у 1886 р. другу в світі пастерівську станцію в Одесі і першим на практиці почав застосовувати щеплення проти сказу. Він провів низку цінних досліджень з епідеміології чуми, бактеріології туберкульозу, розробив заходи щодо ліквідації віспи. В 1898 р. М. Ф. Гамалія вперше описав явище бактеріофагії у паличок сибірки.

Термін ***бактеріофагія*** (з грец. bakterion паличка + phagos пожирач) запропонував американський вчений-мікробіолог канадського походження**Фелікс Хуберт Д'Эррель** в 1917 р.

Загальну пошану здобув своїми працями видатний український мікробіолог, президент АН УРСР Д. К. Заболотний (1866-1929). Він організував першу в світі кафедру епідеміології при Одеському медичному інституті. Багато зусиль і праці віддав Д.К. Заболотний вивченню чуми, холери, дифтерії, черевного й висипного тифів тощо. Д. К. Заболотний — засновник Інституту мікробіологи і епідеміології, нині Інститут мікробіології і вірусології НАН України, що носить його ім'я.

- **Молекулярно-генетичний період**

У дослідах на бактеріях та вірусах було доведено, що носієм генів є ДНК. Було

встановлено її структуру. Мікробіологи відкрили плазміди (нехромосомні носії спадковості, що передають різні ознаки, зокрема резистентність до лікарських засобів). У другій половині XX ст. бурхливо розвивалися вірусологія та імунологія. У галузі вірусології були такі досягнення:

розшифровано молекулярно-генетичну організацію багатьох вірусів;

вивчено механізм взаємодії вірусів із клітиною, загальні механізми перетворення вірусами нормальної клітини на пухлинну (Л. О. Зільбер); У цей же період відбувалося становлення генної інженерії. Розпочалося промислове виробництво вакцин нового покоління – генно-інженерних.

Д. Келєр та І. **Мільстайн** відкрили гібридоми, що дозволило отримати моноклональні антитіла заданої специфічності, які використовують з діагностичною метою.

3. Розвиток сільськогосподарської мікробіології

На сучасному етапі розвитку мікробіологія має вже стільки теоретичних та практичних досягнень, що наука в інтересах подальшого розвитку розділилася на кілька самостійних дисциплін, в тому числі самостійною наукою стала і сільськогосподарська мікробіологія.

В розвитку сільськогосподарської мікробіології величезне значення мали праці видатних вітчизняних вчених мікробіологів: С.М. Виноградський, В.Л. Омелянський, В.С. Буткевич, С.П. Костичев та інші.

В 1866 р. **М.С. Воронінім**були відкриті бульбочкові бактерії. Він вказував, що в бульбочках, які містяться на коренях люпину та вільхи, є мікроскопічні паличко видні тільця, що самостійно рухаються. Серед них є і роздуті, що галузяться.

У 1880 році **Ф.М. Каменський** вияив співіснування рослин з мікоризними грибами. При вивчені анатомічної будови безхлорофільних вищих рослин він помітив, що всі верхівки коренів покриті товстим шаром грибного міцелію, що має важливе значення і для рослин.

Крім мікоризних грибів, в період з 1882 по 1885 роки **П.А. Костичев** детально дослідив інші грунтові гриби.

Ці дослідження певною мірою підготували ґрунт для подальших досліджень

С. М. Виноградського.

Роботи Виноградського створили нову епоху в розвитку ґрунтової мікробіології. Дослідження з ***сіркобактеріями*** (1887), а потім із ***залізобактеріями*** (1888), та з ***нітрифікуючими*** мікроорганізмами (1890) дали значні наукові результати. Йому вдалося отримати чисті культури нітрифікуючи мікроорганізмів і довести, що вони здатні рости на середовищах, що не мають органічних речовин і синтезувати складові частини свого тіла за рахунок вуглецю вугільної кислоти. Необхідну для цього процесу енергію отримують при окисленні аміаку до азотистої кислоти або при окисленні азотної кислоти в азотну (1 і 2 фази нітрифікації). Цей процес синтезу органічних речовин з вуглекислоти та води отримав назву ***хемосинтезу***.

Інша група робіт С.М. Виноградського присвячена вільноживучим азот фіксуючим мікроорганізмам. У 1894 р. виділений ним новий вид вільноживучих азотфіксуючих бактерій було названо на честь Л.Пастера (Clostridium pasteurianum).

Через сім років після виділення цієї бактерії **Бейєрінку** вдалося виділити аеробний фіксатор атмосферного азоту – азотобактер. Присутність цих бактерій у грунті пояснило збільшення азоту у грунті, що спостерігалося агрономами.

Дещо пізніше були вивчені процеси перетворення органічних азотовмісних речовин у грунті.

Буткевич В.С. довів, що накопичення аміаку при розкладі органічних азотовмісних речовин тісно пов'язано з наявністю в середовищі вуглеводів. Він детально дослідив розклад відмерлих білкових решток у грунті в анаеробних умовах при дії мікроорганізмів до виділення аміаку – ***амоніфікацію***.

В цей же період більш детально було вивчено перетворення клітковини у грунті. Ці дослідження були цікавими тим, що клітковина є досить стійкою речовиною. Л. Попову та В.Л. Омелянському вдалося довести, що в грунті є мікрофлора, що руйнує клітковину в анаеробних умовах. Крім целюлозоруйнівних мікроорганізмів Омелянський дослідив також фізіологію та поширення азот фіксуючих мікроорганізмів. Видав книгу «Основи мікробіології»

В.Р. Вільямс (1863 – 1939) вивчав роль мікроорганізмів у створенні структури грунту.

4. Історія та перспективи розвитку мікробіології в Україні

Започаткування інтенсивного розвитку мікробіологічних досліджень в Україні належить всесвітньо відомому вченому-мікробіологу Д.К.Заболотному, який в 1928 р. у складі ВУАН заснував Інститут мікробіології і епідеміології. В Інституті тоді об'єдналися три різні школи мікробіологів України: київська (засновник В.К. Високович), одеська (засновник В.В. Підвисоцький) і харківська (засновник Л.С. Ценковський).

У 1930 р. в Інституті було тільки два відділи: медичної мікробіології та епідеміології, загальної і ґрунтової мікробіології. Через 36 років, незважаючи на важкі воєнні і повоєнні труднощі, Інститут розвивався і в 1966 р. у ньому вже функціонувало 16 відділів, організаторами і керівниками яких були відомі вчені Г. О. Ручко, В. Г. Дроботько, М. М. Підоплічко, Л. Й. Рубенчик, М. М. Сиротинін, Є. І. Квасников, В. Й. Білай, К. Г. Бельтюкова, Б. Ю. Айзенман, О. Я. Рашба, С. М. Московець та інші.

Тепер Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України є провідним науковим і координаційним центром мікробіологічної науки в Україні. В ньому, а також у НДІ епідеміології та інфекційних хвороб (Київ), НДІ мікробіології, вакцин і сироваток ім. І.І. Мечникова (Харків), Інститут молекулярної біології і генетики НАН України (Київ), Інститут сільськогосподарської мікробіології (Чернігів).

Українські мікробіологи продовжують успішно вивчати біологію, біохімію, фізіологію й генетику мікроорганізмів і вірусів, закономірності їх мінливості та спадковості з метою одержання високопродуктивних мікробів-продуцентів

біологічно активних речовин (антибіотиків, білків, ферментів, вітамінів, гормонів, стимуляторів тощо) та розробки теоретичних основ боротьби з бактеріальними, грибковими і вірусними інфекціями. Свої здобутки вони завжди намагалися впроваджувати в різні галузі народного господарства і охорону здоров'я.

Теоретичні дослідження мінливості мікроорганізмів і бактеріофагів (В. Г. Дроботько, Г. О. Ручко, К. Г. Бельтюкова, Г. М. Френкель та ін.) знайшли практичне застосування в профілактиці лікування дизентерії, стафілококових хвороб, в боротьбі з бактеріальною рябухою махорки, а також у селекції високопродуктивних культур оцтовокислих бактерій, необхідних для промислового виробництва оцту.

Особливо інтенсивного розвитку набули мікробіологічні дослідження в Україні у повоєнний період. Ґрунтовне вивчення мікробів-продуцентів біологічно активних речовин дозволило одержати глюкозооксидазу та інші важливі ферменти. З мікроорганізмів і вищих рослин було виділено мікроцид, аренарин, новоіманін, сальвін, фенілгептатрин, Ал-87, біоспорин та інші антибіотики, і рекомендовано для використання у медицині та народному господарстві.

У галузі медичної мікробіології тривають інтенсивні дослідження з фундаментальних питань онкології й ведуться пошуки речовин природного походження, що були б ефективними для лікування злоякісних пухлин (Д. Г. Затула, С. Р. Резнік та ін.), розробляються проблеми ешерихіозів (А. М. Касьяненко, Л. В. Григор'єва, А. Ю. Вершигора та ін.), вивчаються питання складу популяцій холерних вібріонів (А. Г. Сомова), систематики та ідентифікації бактерій роду Pseudomonas(О. А. Кіпріанова та ін.) тощо.

Слід відзначити також довготривалу і плідну роботу з вивчення вірусів рослин, тварин та мікроорганізмів. Вперше в Україні вивчено морфологічні та фізіологічні властивості низки вірусів, проведено їхідентифікацію; з'ясовано антигенні властивості вірусів жовтухи цукрових буряків, зморшкуватої мозаїки і готики картоплі, мозаїки квасолі, кормових бобів, сої та інших культур; розроблено і рекомендовано для впровадження у виробництво заходи боротьби з ними (А. Д. Бобир, С. М. Московець, В. Г. Краєв та ін.). Успішно досліджуються також патогенні віруси людини (С. С. Дяченко, К. М. Синяк, Н. С. Дяченко та ін.). Ґрунтовні дослідження вірусів мікроорганізмів в Україні проводилися під керівництвом Я. Г. Кішка. Успішні дослідження стійкості рослин до бактеріальної інфекції проводяться під керівництвом І. Р. Гвоздяка.

Таким чином, сучасний період розвитку мікробіології в Україні, незважаючи на кризову ситуацію в економіці, характеризується помітним розширенням досліджень у царині технічної мікробіології, вірусології, генетики і генної інженерії, біотехнології та намаганням широко впроваджувати досягнення мікробіологічної науки в практику. Прикладом цього може бути виготовлення таких цінних харчових продуктів, як геролакт та нові антибіотики.

Д\З Опрацювати тему.