



Biblioteka
PRIRODNO-MATEMATIČKIH NAUKA

**Prof. dr Mirjana Bojanic-Rasovic
MIKROBIOLOGIJA**
ZA STUDENTE ANIMALNE PROIZVODNJE
Prvo izdanje

Izdavač
Univerzitet Crne Gore
Cetinjska br. 2, Podgorica
www.ucg.ac.me

Za izdavača
Prof. dr Danilo Nikolic, rektor

Glavni i odgovorni urednik
Prof. dr Stevo Popovic

Urednik biblioteke
Docent dr Andelka Scepovic

Recenzije
Prof. dr Svetlana Perovic
Prof. dr Dejan Krnjajic

Lektura
Mr Bosiljka Cicmil

Graficko oblikovanje
Suzana Pajovic

Stampa
Art-Grafika, Niksic

Tiraž
300 primjeraka

Objavlјivanje ove univerzitske publikacije odobrio je Senat Univerziteta Crne Gore
odlukom br. 03-370/6 od 21. marta 2019. godine.

© Univerzitet Crne Gore, 2020.
Sva prava zadržana. Zabranjeno je svako neovlašćeno umnožavanje, fotokopiranje
ili reprodukovavanje publikacije, odnosno njenog dijela, bilo kojim sredstvom
ili na bilo koji način.

CIP - Каталогизација у публикацији
Национална библиотека Црне Горе, Цетиње

ISBN
COBISS.CG-ID



Mirjana Bojanić-Rašović
MIKROBIOLOGIJA
ZA STUDENTE ANIMALNE PROIZVODNJE

Podgorica, 2020.

S A D R Ž A J

PREDGOVOR	7
O P Š T I D I O	
PREDMET, ZNAČAJ I ISTORIJSKI RAZVOJ MIKROBIOLOGIJE	11
MORFOLOGIJA MIKROORGANIZAMA	33
EKOLOŠKI FAKTORI KOJI DJELUJU NA MIKROORGANIZME	109
ISHRANA I METABOLIZAM MIKROORGANIZAMA	129
RAST I RAZMNOŽAVANJE MIKROORGANIZAMA	163
GENETIKA MIKROORGANIZAMA	181
SISTEMATIKA MIKROORGANIZAMA	195
STANIŠTA MIKROORGANIZAMA U PRIRODI	215
PATOGENOST MIKROORGANIZAMA	225
S P E C I J A L N I D I O	
MIKROORGANIZMI – TROVAČI HRANE	243
OSNOVE ZARAZNIH BOLESTI	255
BAKTERIJE – UZROČNICI ZARAZNIH BOLESTI ŽIVOTINJA	269
GLJIVE – UZROČNICI ZARAZNIH BOLESTI ŽIVOTINJA	301
VIRUSI – UZROČNICI ZARAZNIH BOLESTI ŽIVOTINJA	307
PRIONI – UZROČNICI ZARAZNIH BOLESTI ŽIVOTINJA	321
PARAZITI – UZROČNICI BOLESTI ŽIVOTINJA	325
MIKROBIOLOGIJA STOČNE HRANE	345
ULOGA MIKROORGANIZAMA U VARENJU HRANE KOD PREŽIVARA	357
MIKROBIOLOGIJA MLJEKA I PROIZVODA OD MLJEKA	367
MIKROBIOLOGIJA MESA I PROIZVODA OD MESA	391
MIKROBIOLOGIJA MESA RIBE	399
MIKROBIOLOGIJA JAJA	401
Literatura	405

*Ovo djelo posvećujem svojoj djeci,
sinovima Aleksi i Andriji
koji me svojom bezgraničnom ljubavlju
ispunjavaju i inspirišu*

P R E D G O V O R

Ovaj udžbenik je rađen prema nastavnom planu i programu predmeta Mikrobiologija koga slušaju studenti Biotehničkog fakulteta Univerziteta Crne Gore u Podgorici, na studijskom programu Animalna proizvodnja. Imajući u vidu da udžbenik obrađuje i teme iz opšte mikrobiologije, vjerujem da kao dodatna literatura može koristiti i studentima drugih srodnih fakulteta u upoznavanju sa mikroorganizmima.

S obzirom na značaj koji imaju inženjeri stočarstva i animalne proizvodnje u preventivi, odnosno sprečavanju bolesti životinja i ljudi, proizvodnji stočne hrane, primarnoj proizvodnji i preradi namirnica animalnog porijekla, pripremanju obroka za ishranu životinja, obradi tečnog i čvrstog đubriva (stajnjaka), proizvodnji mikrobiološkog đubriva u cilju poboljšanja plodnosti zemljišta, kontroli proizvodnje i čuvanja stočne hrane, kao i hrane za ljude, poznавanje mikrobiologije im je neophodno u razumijevanju svih ovih oblasti. Mikroorganizmi se nalaze u svim životnim staništima, a zbog svoje izuzetno velike brzine razmnožavanja, značajno utiču na procese sinteze i razlaganja kako organskih, tako i neorganiskih jedinjenja u prirodi. Zahvaljujući svojoj raznovrsnoj metaboličkoj aktivnosti, oni utiču na opstanak i odvijanje životnih funkcija svih drugih živih bića na zemlji – biljaka, životinja i ljudi. Neke vrste mikroorganizama mogu djelovati negativno, odnosno štetno, tako što izazivaju bolesti životinja, biljaka i ljudi ili mogu dovesti do kvarenja, odnosno truljenja stočne hrane i životnih namirnica. Druge vrste mikroorganizama su korisne i njihova aktivnost je neophodna u dobijanju konzervisane stočne hrane (silaža, sjenaža), konzervisane hrane za ljude (konzervacija voća, povrća, proizvoda od mlijeka, mesa i proizvoda od mesa), pri čemu utiču na dobijanje namirnica specifičnih svojstava – ukusa, konzistencije i mirisa. Svako klimatsko podneblje ima i svoju specifičnu mikrofloru koju karakterišu jedinstvene metaboličke osobine. Zahvaljujući tome, u različitim klimatskim područjima se proizvode i različiti prehrambeni proizvodi (jogurt, sir, kajmak, kobasice i dr.).

Imajući u vidu gore navedeno, poznавanje mikroorganizama će omogućiti budućim inženjerima poljoprivrede da se uspješno bore protiv štetnih, truležnih i patogenih mikroorganizama, a da koriste potencijal korisnih mikroorganizama u svim oblastima poljoprivrede i prehrambene industrije.

Kroz ukupno 22 tematske cjeline ovog udžbenika pokušala sam da studentima približim najvažnije činjenice iz istorijskog razvoja mikrobiologije, osnovna morfološka svojstva

mikroorganizama, ekološke faktore koji djeluju na mikroorganizme, uticaj mikroorganizama na okolinu, način ishrane i metabolizam mikroorganizama, rast i razmnožavanje mikroorganizama, kao i način svrstavanja mikroorganizama u sistematske kategorije. Dalje, pokušala sam da približim sljedeće teme: pojam patogenosti mikroorganizama, imunitet životinja, osnovne osobine mikroorganizama i osnovne osobine parazita koji izazivaju bolesti životinja. Takođe je obrađen i značaj korisnih i štetnih mikroorganizama u procesu proizvodnje hrane za životinje, kao i posebna uloga mikroorganizama u varenju hrane preživara. U poglavljima koja se odnose na mikrobiologiju mlijeka, mesa i jaja ukazano je na korisne i štetne aspekte djelovanja mikroorganizama koji se mogu naći u ovim namirnicama.

Posebnu zahvalnost dugujem prof. dr Veri Katić i prof. dr Aleksandri Martinović, na temeljnoj i sveobuhvatnoj analizi teksta i veoma korisnim sugestijama i savjetima, koje sam sa velikim zadovoljstvom unijela u ovaj tekst. Veliku zahvalnost dugujem uvaženim recenzentima na veoma korisnim sugestijama kojima su doprinijeli boljem kvalitetu rukopisa.

Takođe, zahvaljujem našem administratoru Marijani Maksimović na svesrdno pruženoj pomoći u tehničkoj obradi i prilagođavanju slika njihovoj namjeni. Neizostavno, veliku zahvalnost dugujem mojoj porodici na ogromnom razumijevanju i podršci koje su mi pružali tokom rada na ovoj knjizi.

Nadam se da će mi uvaženi studenti i kolege, koji budu pročitali ovaj udžbenik dati svoje sugestije, što će doprinijeti da sljedeće izdanje bude još bolje i korisnije.

S poštovanjem,
Prof. dr Mirjana Bojanović-Rašović
Podgorica, 2019.

.....

OPŠTI DIO

.....

PREDMET, ZNAČAJ I ISTORIJSKI RAZVOJ MIKROBIOLOGIJE

Mikrobiologija je nauka o malim, golin okom nevidljivim živim organizmima, koji se nazivaju mikroorganizmi ili mikrobi. Dobila je ime od grčkih riječi *micros* – mali, *bios* – život i *logos* – nauka. Ona izučava: morfologiju, sistematiku, fiziologiju, ekologiju mikroorganizama, kao i njihovu ulogu u prirodi i životu čovjeka.

Morfologija izučava izgled, građu i veličinu ćelije mikroorganizama. Sistematika se bavi klasifikacijom (svrstavanjem) mikroorganizama na osnovu njihovih srodničkih osobina. Fiziologija proučava metabolizam i životne funkcije mikroorganizama (disanje, rast, razmnožavanje, razmjenu materija sa okolinom itd.). Ekologija izučava uticaj faktora spoljašnje sredine na mikroorganizme, kao i načine njihovog prilagođavanja na te faktore u određenoj biocenozi. Ekologija mikroorganizama izučava i međusobne odnose mikroorganizama, kao i njihov odnos sa drugim organizmima. Biocenoza predstavlja skup svih živilih organizama koji žive u jednom određenom prostoru – staništu, tj. biotopu.

Mikrobiologija je nauka širokih mogućnosti. Sve dok mikroorganizmi nisu bili otkriveni, mnoge pojave koje su se dešavale u prirodi nisu bile objašnjene (pojava zaraznih bolesti, fermentacije, truljenje). Danas su mikroorganizmi našli široku primjenu u mnogim industrijama – hemijskoj, farmaceutskoj, prehrambenoj, u poljoprivredi, medicini. Mogu se otkriti samo uz pomoć optičkog ili elektronskog mikroskopa. Uz pomoć optičkog mikroskopa (slika 1a) se može vidjeti samo oblik mikroorganizama, a elektronskim mikroskopom (slika 1b) i unutrašnja građa mikroorganizama. Maksimalno uveličanje optičkog mikroskopa iznosi 3000 puta. To omogućava razlikovanje čestica koje nisu manje od 0,1 µm.



SLIKA 1a – Optički – svjetlosni mikroskop
(<http://bestcompoundmicroscopes.com>)

Savremeni elektronski mikroskopi imaju sposobnost razdvajanja do 0,15 nm, pa se pomoću njih mogu vidjeti ne samo sitni organizmi, već i finije strukture ćelija. Uvećanje elektronskog mikroskopa iznosi 100.000 puta.

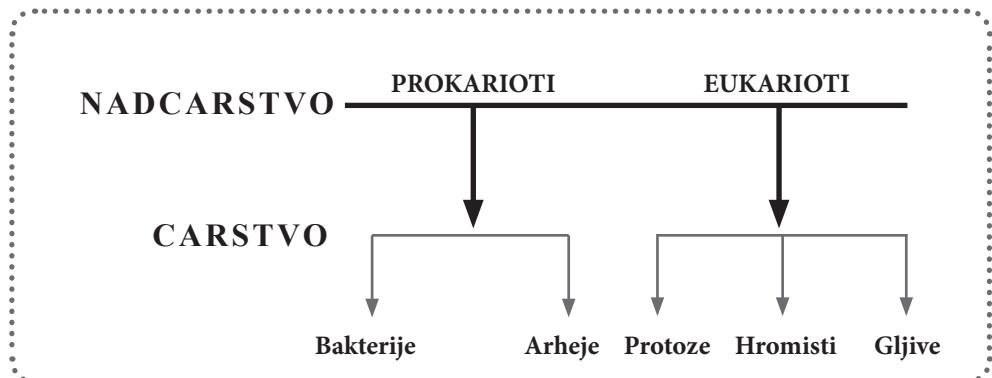


SLIKA 1b – Transmisioni elektronski mikroskop (TEM)

(<https://www.marine.usf.edu/research/facilities-and-equipment/electron-microscopy-laboratory>)

Svi mikroorganizmi koji imaju ćelijsku građu svrstani su u dva nadcarstva: *Prokaryota* i *Eukaryota*. Nadcarstva se dijele na pet carstava: **Bakterije, eubakterije** – prave bakterije (*Bacteria, Eubacteria*), **Arheje** (*Archaea*), **Protozoe** (*Protozoa*), **Hromisti** (*Chromista* – alge koje sadrže hlorofile *a* i *c*) i **Gljive** (*Fungi* – pljesni i kvasci). Eubakterije i arheje pripadaju nadcarstvu *Prokaryota* – prokariotima (imaju prokariotsku građu ćelije koje karakteriše primitivno jedro), a protozoe, alge i gljive carstvu *Eukaryota* – eukariotima (imaju eukariotsku građu ćelije, mikroorganizmi koji imaju pravo jedro) (slika 2).

Virusi su acellularni mikroorganizmi i svrstani su u posebno carstvo – carstvo *Virus* (*Viralia*). Virusni sateliti, viroidi i prioni su subvirusne čestice.



SLIKA 2 – Šema podjele mikroorganizama na nadcarstva i carstva

Mikroorganizmi su široko rasprostranjeni u prirodi. Nalaze se u vodenim ekosistemima, vazduhu, zemljištu, na površini i unutar tijela čovjeka, životinja i biljaka, u hranljivim proizvodima itd. Široka rasprostranjenost mikroorganizama ukazuje na njihovu veoma značajnu ulogu u prirodi. Zahvaljujući njihovoj aktivnosti dolazi do razlaganja različitih organskih i neorganskih materija u zemljištu i vodenim bazenima, stvaranja energije i biogoriva, kruženja materije i energije u prirodi, stvaranja plodnog zemljišta, kamenog uglja, nafte i mnogih drugih rudnih bogatstava.

Zahvaljujući mnogobrojnim enzimima, mikroorganizmi imaju sposobnost da iskorišćavaju različite organske i neorganske materije. Usvajanje rastvorenih hranljivih materija vrše cijelom površinom svog organizma. Procese metabolizma mogu da vrše u aerobnim i anaerobnim uslovima, u kisjelim, baznim i neutralnim sredinama, na temperaturama ispod nule i temperaturama do 100°C, pri čemu se razmnožavaju geometrijskom progresijom.

Zahvaljujući razvoju nauke i tehnike, znanja o mikroorganizmima su dostigla visok nivo, što je omogućilo njihovu primjenu u raznim oblastima. U industriji se mikroorganizmi koriste u proizvodnji antibiotika, vitamina, alkohola, vina, organskih kisjelina, proteina, enzima, hormona, proizvodnji i preradi mlijeka, konzervisanju voća i povrća i pekarstvu.

U biljnoj proizvodnji se koriste za proizvodnju mikrobioloških đubriva i biopesticida. U stočarskoj proizvodnji se koriste u proizvodnji silaže, kao proteinski dodatak stočnoj hrani (kviasi i alge) ili kao zamjena za neke komponente stočne hrane; nezamjenjiva je uloga mikroorganizama u kompostiranju stajnjaka, proizvodnji biogasa iz nus proizvoda animalnog i biljnog porijekla, bioremedijaciji – prečišćavanju zagadenog zemljišta, površinskih, podzemnih i otpadnih voda, vazduha. Pored izuzetno korisne uloge, mnogi mikroorganizmi su štetni. To su patogeni mikroorganizmi koji izazivaju oboljenja čovjeka, životinja i biljaka, toksigeni mikroorganizmi koji proizvode toksine opasne po zdravlje živih organizama i mikroorganizmi koji uzrokuju kvarenje prehrambenih proizvoda.

Genetički inženjering omogućio je razvoj biotehnologije, tj. nastanak visokoproduktivnih mikroorganizama koji sintetišu bjelančevine, enzime, vitamine, antibiotike, stimulatore rasta i druge proizvode neophodne za animalnu i biljnu proizvodnju. Stvaranjem genetski modifikovanih korisnih mikroorganizama omogućena je njihova primjena u poljoprivredi, industriji i medicini.

ISTORIJSKI RAZVOJ MIKROBIOLOGIJE

Stari Egipćani su još oko 4000 g. p. n. e. znali da se neke bolesti prenose dodirom s bolesnog čovjeka na zdravog. Poznavali su dezinfekcionu moć kuhinjske soli i nekih drugih jedinjenja (propolis, vosak) koja su koristili za konzervisanje mumija. Asirci i Vavilonci su prije 3500 godina znali da je lepra (guba) prenosiva bolest (uzročnik je bakterija *Mycobacterium leprae*), koja se manifestuje pojavom čvorova pretežno u području glave, ali i na drugim djelovima tijela (slika 3). Bakterija napada nerve ruku, nogu i lica. Može uzrokovati sljepilo i oduzeti sposobnost pomicanja ruku i očnih kapaka.



SLIKA 3 -Lepra – guba

(<http://produzivot.com/lepra-guba-mycobacterium-leprae>)

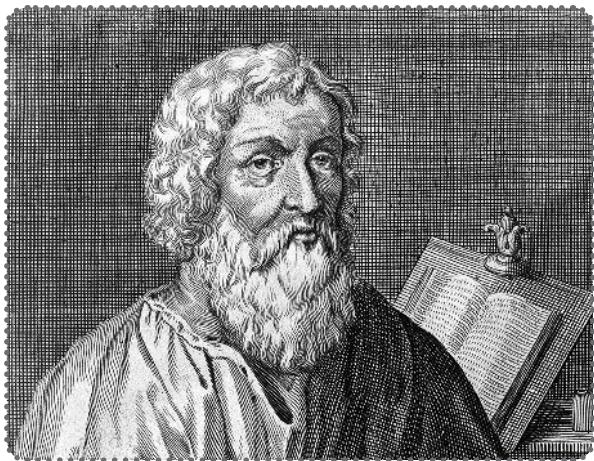
U Mojsijevoj knjizi pisanoj 400 g. p. n.e. nalaze se podaci iz kojih se vidi da su stari Jevreji znali da su kuga, antraks, tuberkuloza, šuga (slika 4), bolesti koje se prenose dodirom, odjećom, prašinom, sa bolesnih ljudi na zdrave.



SLIKA 4 – Šuga – promjene na koži

(<https://www.roditelji.me/blog/2014/12/02/broj-oboljelih-od-suge-u-crnoj-gori-uobicajen>)

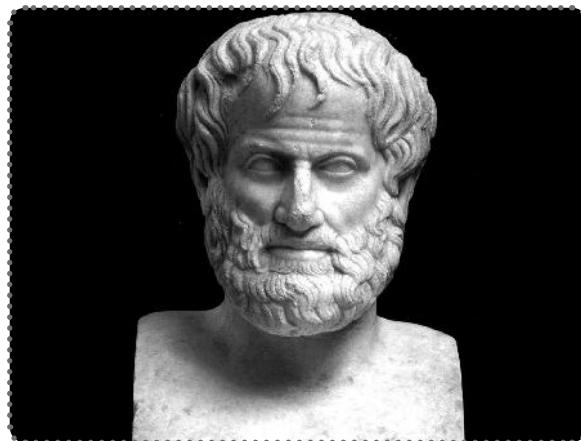
Do XV vijeka (kroz cijeli stari i srednji vijek) se pretpostavljalo da bolesti izazivaju tzv. „mijazme“ – posebna patogena isparanja koja se nalaze u vazduhu. Teoriju „patogenih mijazmi“ u IV vijeku p. n. e. postavio je veliki ljekar **Hipokrat** (460–370 g. p. n. e.) (slika 5). Hipokrat je postavio teoriju o patološkoj konstituciji organizma, kao unutrašnjem, i mijazmi, kao spoljašnjem faktoru, koji utiču na nastanak bolesti.



SLIKA 5 – Hipokrat (460–370. g. p. n. e.)

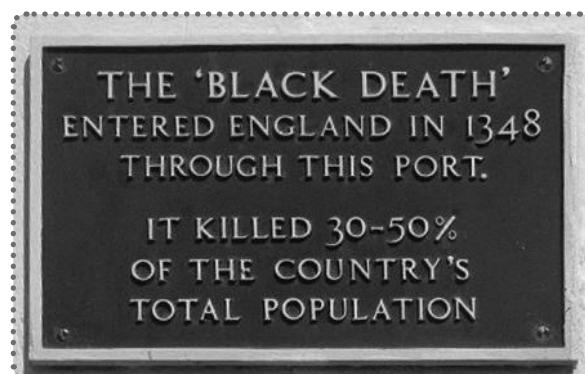
(<https://twitter.com/AffideaHR/status/885772203865845760>)

Mnogi veliki filozofi, kao što je bio **Aristotel** (384–322 g. p. n. e.) (slika 6) su smatrali da sva živa bića mogu nastati iz nežive materije. Ovo razmišljanje o spontanoj generaciji (spontanom nastanku) je bilo prisutno kroz cijeli stari i srednji vijek, kao i veliki dio novog vijeka.



SLIKA 6 – Aristotel (384 –322. g. p. n. e)
(<https://www.libertatea.ro/stiri/arheologii-sustin-ca-ar-fi-descope-rit-mormantul-lui-aristotel-1494187>)

Srednji vijek (period od V do XV vijeka n. e.) je bio razdoblje velikih epidemija raznih zaraznih bolesti. Od kuge (crne smrti) je u XIV vijeku umrlo 25 miliona ljudi (četvrtina tadašnjeg stanovništva na zemljbi) (slika 7).



SLIKA 7 – Tabla koja pokazuje broj umrlih od kuge u Engleskoj
(<http://weyside.blogspot.com/2012/09/the-plague-arrives.html>)

Sve do kraja srednjeg vijeka nije bilo napretka u znanju o porijeklu zaraznih bolesti, a sva dotadašnja iskustva i znanja su bila potisнута crkvenim vjerovanjem. Danas se zna da kugu izaziva bakterija *Yersinia pestis*. Uzročnik je otkriven 1894. g. od strane naučnika Yersina i Kitasata. Kuga se u srednjem vijeku lako širila zbog loših higijenskih uslova. Njeni simptomi su bili jake glavobolje praćene znojenjem i groznicom i pojava velikih gnojnih otoka, sa smrtnim ishodom (slike 8 i 9).



SLIKA 8 – Nekroza prstiju ruke oboljelog od kuge

(<https://edition.cnn.com/2017/10/16/health/madagascar-pneumonic-bubonic-plague-outbreak-continues/index.html>)



SLIKA 9 – Nekroza prstiju noge oboljelog od kuge

(<http://fewwww.wordpress.com/tag/yersinia-pestis/>)

Italijanski fizičar iz Verone, **Girolamo Fracastoro** (1478–1553, Girolamo Fracastorius, slika 10), prvi je smatrao da su uzročnici zaraznih bolesti živi organizmi i nazvao ih je „seminaria morbi“. Međutim, ovi njegovi zaključci bili su samo rezultat iskustva i nisu bili dokazani.



SLIKA 10 – Girolamo Fracastoro (1478–1553)
(https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/9/9c/Portrait_of_Girolamo_Fragastoro_Wellcome_M0000272EA.jpg)

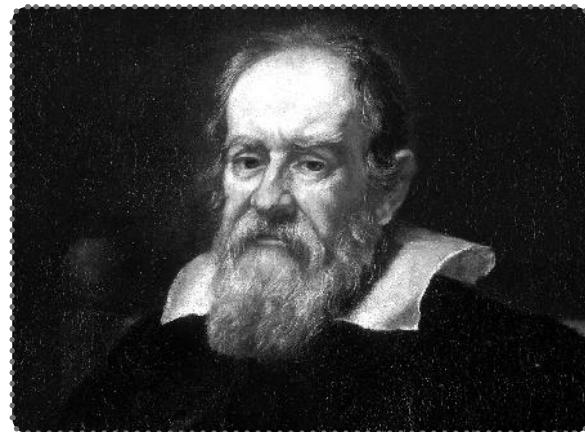
OTKRIĆE MIKROSKOPA I MIKROORGANIZAMA

Krajem XVI vijeka (oko 1590. g.) Holanđani **Hans i Zaharias Jansen** (Hans i Zaccharias Janssen, slika 11) su prvi konstruisali složeni mikroskop.



SLIKA 11 – Zaccharias Janssen
(<https://www.datuopinion.com/zacharias-janssen>)

Početkom XVII vijeka poznati astronom **Galileo Galilej** (1564–1642) (slika 12) je konstruisao složeni mikroskop s malim uveličanjem, koga su činila kratkofokusna sočiva.



SLIKA 12 – Galileo Galilei (1564–1642)

(https://sh.wikipedia.org/wiki/Datoteka:Justus_Sustermans_-_Portrait_of_Galileosl_Galilei,_1636.jpg)

Zasluge za otkriće nevidljivog svijeta pripadaju **Antoniu van Levenhuku** (Antony van Leeuwenhoek, 1632–1723, slika 13), koji se smatra ocem mikrografije, tj. opisne (morphološke) mikrobiologije.



SLIKA 13 – Antony van Leeuwenhoek (1632–1723)

(<https://picryl.com/media/portret-van-antonie-van-leeuwenhoek-cf0ab2>)

Levenhuk je bio trgovac platnom, ali je čitavo svoje slobodno vrijeme posvećivao izradi sočiva. Njegov sistem je davao uveličanje od 270 do 300 puta (slika 14).



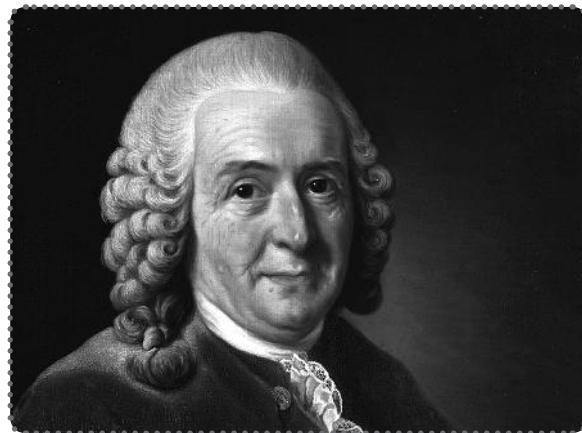
SLIKA 14 – Levenhukov mikroskop

(<https://www.britannica.com/biography/Antonie-van-Leeuwenhoek>)

Levenhuk je otkrio mikroorganizme 1673. g. posmatrajući pod mikroskopom kapi kišnice, koja je stajala nekoliko dana u bačvi. Tom prilikom je uočio veliki broj vrlo sitnih pokretnih organizama koje je nazvao „animalkule“. Jedan mikroskop je 1698. g. ruski car Petar I dobio od A. van Levenhuka na poklon. Proizvodnja ruskih mikroskopa je počela 1725. g. u radionicama Akademije nauka u Sankt Petersburgu.

Zahvaljujući razvoju optike i otkrića mikroorganizama, interesovanje za proučavanje mikroorganizama je raslo. Švedski naučnik **Karl Linné** (Karl Linné, 1707–1778, slika 15) je napravio prvu sistematiku živog svijeta, uvodeći binarnu nomenklaturu. On je mikroorganizme svrstao u jedan zajednički rod, koji je zbog velike heterogenosti nazvao „Chaos“ (haos). Od tada počinje sistematika mikroorganizama, koja se stalno dopunjava, mijenja, usavršava.

Prva sistematika bakterija je urađena 1923. g. i izdata u knjizi **Berdžijev priručnik** (*Bergey's Manual*). U periodu do 1880. g. najveća pažnja je posvećena morfolojiji mikroorganizama, pa se ta faza u razvoju mikroorganizama naziva morfološka faza. Teoriju spontane generacije je opovrgnuo francuski naučnik **Luis Paster** (Louis Pasteur, 1822–1895, slika 16), jer je dokazao da mikroorganizmi u razne rastvore dospijevaju česticama vazduha.



SLIKA 15 – Karl Linné (1707–1778)

(https://en.wikipedia.org/wiki/File:Carl_von_Linn%C3%A9.jpg)



SLIKA 16 – Louis Pasteur (1822–1895)

([https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Louis_Pasteur_\(1822-1895\)_microbiologist_and_chemist_Wellcome_M0000148.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Louis_Pasteur_(1822-1895)_microbiologist_and_chemist_Wellcome_M0000148.jpg))

Za ime L. Pastera je vezan dalji razvoj mikrobiologije. On je prvi ukazao na ogromnu ulogu mikroorganizama, kao učesnika u različitim biohemijskim transformacijama i izazivača oboljenja živih bića. Njegovim radom započeo je novi period u razvoju mikrobiologije koji se naziva fiziološki. Svoj naučni rad Paster je započeo kao hemičar, nastavio kao mikrobiolog, a završio kao ljekar. Prvo otkriće L. Pastera do koga je došao u istraživanjima mikroorganizama je **vrenje**. Dokazao je da bakterije mlijecne kisjeline transformišu šećer u mlijecnu kisjelinu, a da kvasci izazivaju alkoholno vrenje. Proučavajući izazivače buternog vrenja, pokazao je da oni mogu živjeti samo u

odsustvu kiseonika, što znači da je otkrio „striktnе anaerobe“. **Fermentacije – vrenja** predstavljaju mikrobiološka razlaganja organskih jedinjenja procesom **oksidacije**, ali bez prisustva kiseonika. Ispitujući bolesti svilenih buba, Paster je razradio mikrobnu teoriju zaraznih oboljenja.

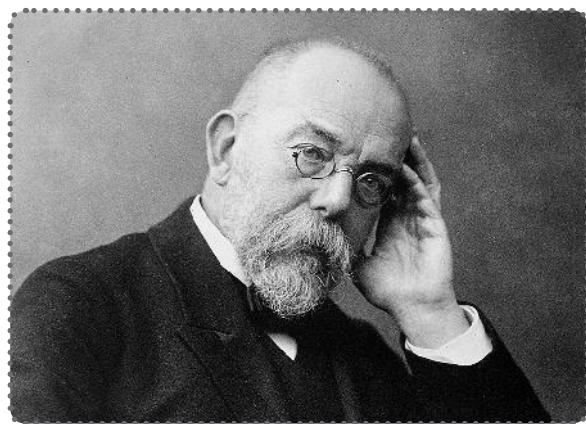
Takođe je radio na proučavanju uzročnika crnog prišta, crvenog vjetra, bjesnila, čira itd. Radovi Pastera na vakcinaciji protiv bjesnila su veoma značajni. Prvi koga je Paster vakcinisao i spasio od bjesnila bio je devetogodišnji dječak koga je ujeo bijesan pas (slika 17). Ovi radovi predstavljaju temelj razvoja imunologije. Paster je takođe uveo postupak pasterizacije, sterilizacije, kultivaciju mikroorganizama na vještačkim hranljivim podlogama, korišćenje omče – eze u presijavanju mikroorganizama itd.



SLIKA 17 – Paster vakciniše devetogodišnjeg dječaka protiv bjesnila 1885. godine
(<https://www.alamy.com/stock-photo-rabies-hydrophobia-vaccination-administered-to-teenage-jean-baptiste-38132721.html>)

1888. g. u Parizu je otvoren Pasterov institut. Značajan doprinos u izgradnji Instituta dala je vlada Rusije. U tom institutu radili su mnogi istaknuti mikrobiolozi, među kojima i ruski. Paster je svoja razmišljanja o mikroorganizmima izrazio rečenicom: „Mikroorganizmi su svuda, mikroorganizmi su svemoćni, mikroorganizmi će imati posljednju riječ“, što se i pokazalo tačnim sve do danas. Zbog svog velikog doprinosa u izučavanju mikroorganizama, Paster se smatra osnivačem mikrobiologije.

Njemački ljekar **Robert Koch** (Robert Koch, 1843–1910, slika 18) je pored L. Pastera, dao poseban doprinos razvoju mikrobiologije.



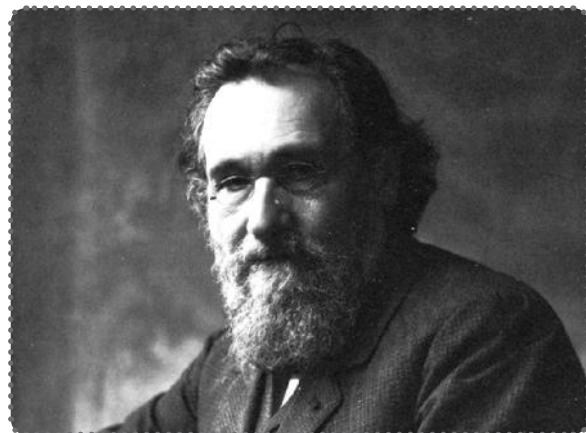
SLIKA 18 – Robert Koch (1843–1910)

(https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/55/Robert_Koch.jpg)

Koh je uveo kultivisanje bakterija na čvrstim hranljivim podlogama, metode čistih kulturna, kriterijume za utvrđivanje etiologije zaraznih bolesti (Kohovi postulati), otkrio je uzročnika tuberkuloze (*Mycobacterium tuberculosis*) i kolere (*Vibrio cholerae*), uveo je tehnike bojenja bakterija anilinskim bojama. (Anilinske boje su sintetičke organske boje, proizvedene od anilina. Anilin – fenilamin, aminobenzen, je organsko jedinjenje koje se sastoji od fenil grupe – C_6H_5 , vezane za amino grupu – NH_2 . Danas se u mikrobiologiji uglavnom koriste alkalne anilinske boje, kao što su: metilensko plavo, gencijana ljubičasto (gencijana violet), kristal ljubičasto, metil ljubičasto, karbol fuksin i dr. Od kisjelih anilinskih boja najviše se koristi eozin. Bakterije su blago negativno nanelektrisane, pa lako vezuju pozitivno nanelektrisane bazne boje). Kohovi postulati glase: 1. Mikroorganizam koji uzrokuje oboljenje je uvijek prisutan u oboljelom organizmu, 2. Mikroorganizam se iz bolesnika mora izolovati u čistoj kulturi, 3. Ogledna životinja zaražena čistom kulturom mikroorganizama mora pokazati iste znakove oboljenja,

4. Isti mikroorganizam mora biti ponovo izolovan iz ogledne životinje u čistoj kulturi. Robert Koh je dobitnik Nobelove nagrade 1905. g.

Ruski naučnik **Ilja Iljič Mečnikov** (1845–1916) (slika 19) je dao veliki doprinos razvoju imunologije. Tokom rada u Pasterovom institutu, objavio je veliki broj radova iz oblasti fagocitoze i odbrane organizma od zaraznih bolesti. Za svoja otkrića 1908. g. dobio je Nobelovu nagradu.



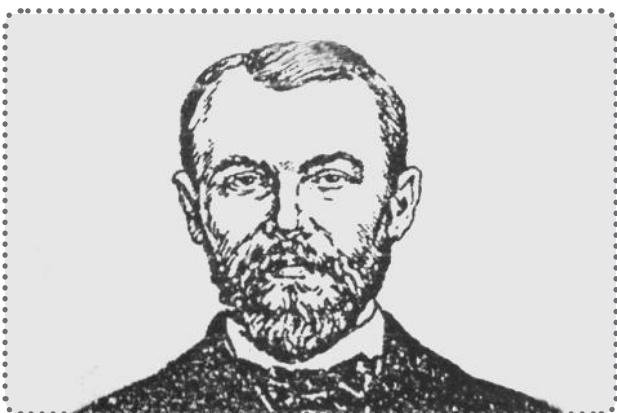
SLIKA 19 – Ilja Iljič Mečnikov (1845–1916)
(https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Ilja_Iljitsch_Metschnikow_Nadar.jpg)

Od 1922. do 1953. godine u Pasterovom institutu je radio i **Sergej Nikolajevič Vinogradski** (1856–1953) (slika 20a) koji se bavio istraživanjima iz oblasti zemljишne mikrobiologije. On je otkrio biohemiske procese, kao što su: azotofiksacija, nitrifikacija, razlaganje celuloze i osmislio veliki broj metoda za ispitivanje mikroorganizama u zemljишtu. Azotofiksacija predstavlja proces redukcije atmosferskog azota u amonijak. Ovo je vitalan ekološki proces, jer sve zelene biljke imaju potrebu za azotom u obliku amonijaka ili nitrata, koji im je neophodan za sintezu aminokiselina, odnosno proteina. Biljni proteini su jedini izvor proteina za životinje. Prema tome, život na planeti je uslovljen aktivnošću mikroorganizama. Nitrifikacija je proces oksidacije amonijaka do nitrita i oksidacije nitrita u nitrat, a vrše ga neke bakterije (*Nitrosomonas*, *Nitrobacter*).



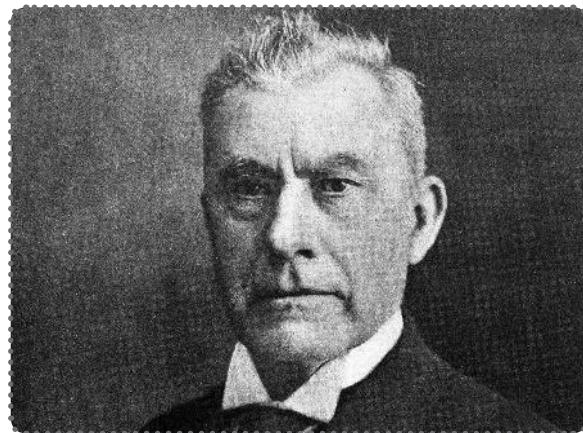
SLIKA 20a – Sergej Nikolajevič Vinogradski (1856–1953)

Dimitrije Ivanovič Ivanovski (1864–1920) (slika 20b) je na duvanu otkrio oboljenje za koje je smatrao da je prouzrokovano bakterijskim toksinima, koji mogu da prođu kroz bakteriološke filtre. Otkrićem tog filtrabilnog agensa je postavio temelj razvoja virusologije.



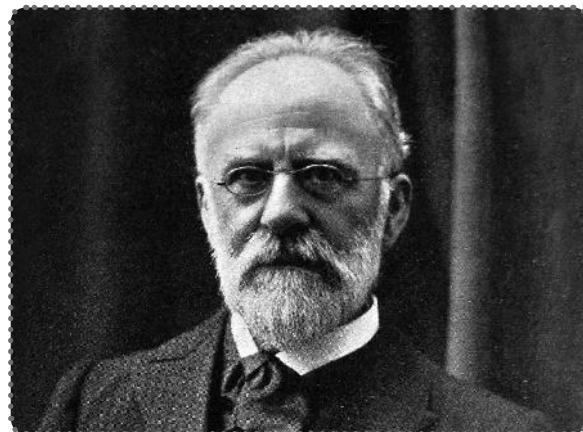
SLIKA 20b – Dimitrije Ivanovič Ivanovski (1864–1920)

Osnivačem virusologije se smatra **Martin Beijerinck** (Martinus Willem Beijerinck, 1851–1931, slika 21). On je 1898. g. proučavao mozaično oboljenje duvana i utvrdio da je uzrok ovog oboljenja „zarazna živa tečnost“, a 1904. g. uzročniku ove bolesti je dao naziv „virus“ (otrov).



SLIKA 21 – M. Beijerinck (1851–1931)
([https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Bronze_plaque_of_Martinus_Willem_Beijerinck_\(1851–1931\)_Wellcome_M0002348.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Bronze_plaque_of_Martinus_Willem_Beijerinck_(1851–1931)_Wellcome_M0002348.jpg))

Eksperimentalna faza razvoja mikrobiologije započinje uvođenjem čistih kultura u eksperimente, a zatim i njihovom primjenom u praksi. **Emil Christian Hansen** (1842–1909) (slika 22) je otkrio *Saccharomyces cerevisiae*, vrstu kvasca koja se koristi u pivarnstvu (slika 23).

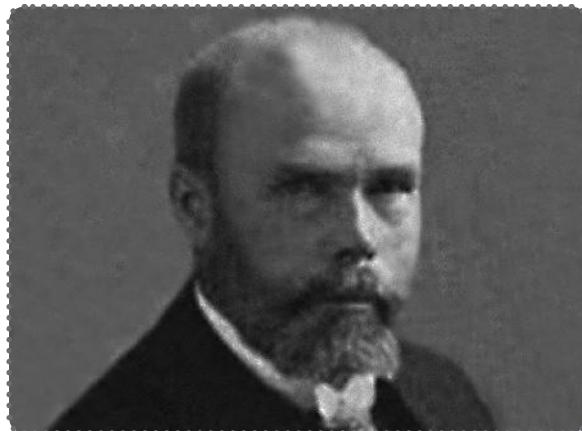


SLIKA 22 – E. C. Hansen (1842–1909)
(https://en.wikipedia.org/wiki/Emil_Christian_Hansen)



SLIKA 23 – *Saccharomyces cerevisiae* (SEM)
(https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Saccharomyces_cerevisiae_NEU2011)

Za izučavanje i primjenu čistih kultura mikroorganizama u mljekarstvu značajni su radovi **Sigurda Orla-Jensena** (1870–1951) (slika 24).



SLIKA 24 – S.O. Jensen (1870–1951)
(<https://www.danskkulturark.dk/kb/sigurd-orla-jensen>)

Orla-Jensen je utvrdio da su bakterije mlječne kisjeline i bakterije propionske kisjeline odgovorne za odvijanje hemijskih promjena tokom zrenja sira. Njegova istraživanja su značajno uticala na primjenu čistih kultura mikroorganizama u mljekarstvu.

Aleksandar Fleming (Alexander Fleming, 1881–1955, slika 25), engleski naučnik i ljekar, utemeljio je nauku o antibioticima.

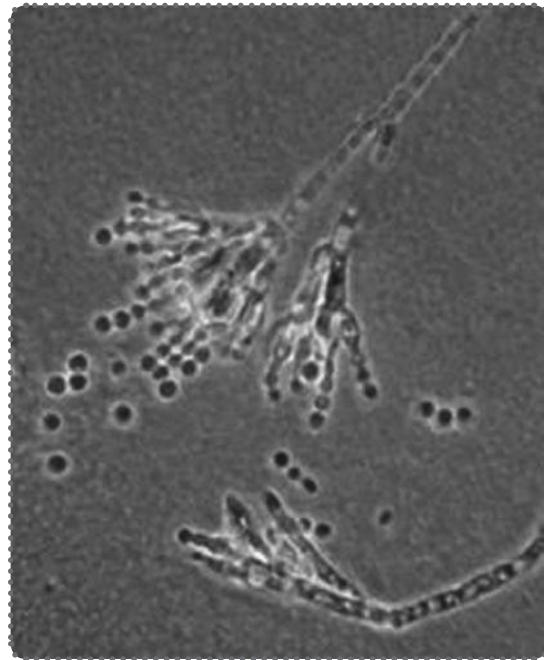


SLIKA 25 – A. Fleming (1881–1955)
(https://en.wikipedia.org/wiki/Alexander_Fleming)

Fleming je 1929. g. slučajno otkrio penicilin, tako što je uočio da u zoni rasta pljesni *Penicillium notatum* ne rastu streptokoke (slike 26 i 27). Penicilin nastaje kao proizvod metabolizma gljiva iz roda *Penicillium*. Za svoja otkrića je 1945. g. dobio Nobelovu nagradu.

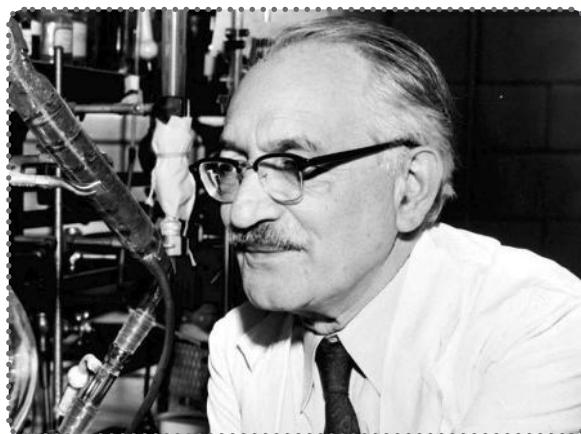


SLIKA 26 – Kolonija *Penicillium notatum*
(<http://www.austincc.edu/microbugz/fungi.php>)



SLIKA 27 – *Penicillium notatum*, nativni preparat
(https://botit.botany.wisc.edu/toms_fungi/nov2003.html)

Selman Vaksman (Selman Waksman, 1888–1973, slika 28) je 1943. g. otkrio streptomycin, koga stvaraju bakterije – aktinomicete iz roda *Streptomyces*. Za to otkriće je 1952. g. dobio Nobelovu nagradu.



SLIKA 28 – Selman Waksman (1888–1973)
(https://tn.com.ar/sociedad/selman-waksman-quien-disimula-sucaridad-es-doblemente-generoso_889781)

Matematička faza u razvoju mikrobiologije odlikuje se težnjom da se određene zanitosti u životu mikroorganizama prikažu u vidu formula. Ovo je olakšalo primjenu mikroorganizama u industriji.

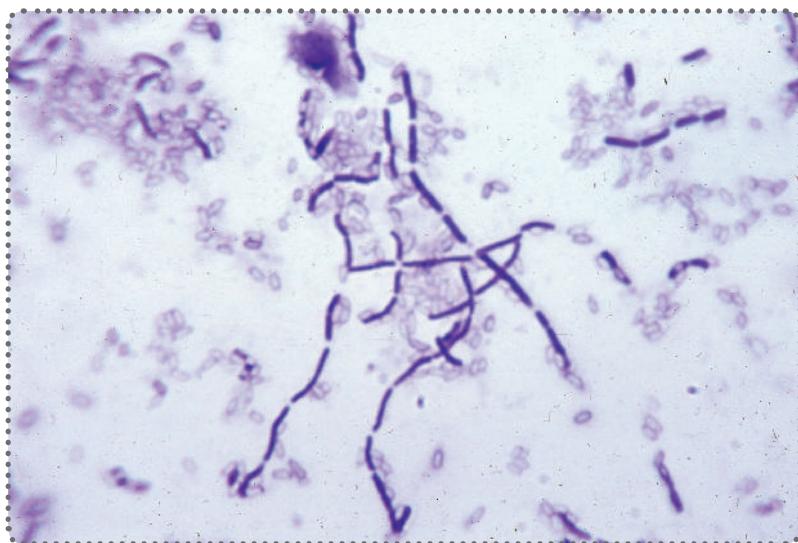
Otkrićem gena koji su odgovorni za pojedina svojstva mikroorganizama, u mikrobiologiji se sve više vrše genetička istraživanja. Genetskim manipulacijama (prenošenjem gena iz jednog mikroorganizma u drugi) dobijaju se mikroorganizmi sa sposobnošću hiperprodukcije antibiotika, vitamina i drugih materija, što ima značaja u industrijskoj mikrobiologiji. Mikroorganizme treba dobro poznavati, kako bi se djelovanje korisnih moglo primijeniti, a štetnih spriječiti.

PITANJA

1. Šta je mikrobiologija?
2. Šta su mikroorganizmi?
3. Koja je korisna uloga mikroorganizama u prirodi?
4. Koja je uloga mikroorganizama u stočarstvu i prehrambenoj industriji?
5. Koje je štetno dejstvo mikroorganizama na ljude, životinje i biljke?
6. Objasni Hipokratovu teoriju „patogenih mijazmi“.
7. Ko je prvi uočio mikroorganizme i kada?
8. Koji je naučnik napravio prvu sistematiku živog svijeta?
9. Koji se naučnik smatra osnivačem mikrobiologije i zašto?
10. Koja su otkrića Roberta Koha značajna za razvoj mikrobiologije?
11. Koji je naučnik otkrio penicilin i kako je došao do tog otkrića?
12. Koja su otkrića naučnika Vinogradskog, Ivanovskog, Mečnikova i Bejerinka?
13. Koja su otkrića naučnika Hansena?
14. U čemu je značaj istraživanja naučnika Orla-Jensena?
15. Koji je naučnik otkrio streptomicin?
16. Šta karakteriše pojedine faze razvoja mikrobiologije?

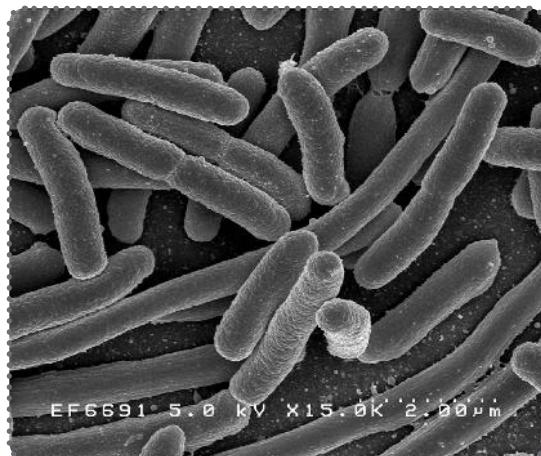
MORFOLOGIJA MIKROORGANIZAMA

Morfologija mikroorganizama izučava oblik, veličinu i njihovu građu. Mikroskop je instrument pomoću koga je moguće dobiti uveličanu sliku mikroorganizama. Postoje **svjetlosni mikroskopi**, koji kao izvor svjetlosti koriste svjetlost i **elektronski mikroskopi**, koji umjesto izvora svjetlosti koriste snop elektrona. Svjetlosni, optički mikroskop se najčešće koristi u mikrobiološkim laboratorijama. Postoje prosti svjetlosni mikroskopi – koji imaju samo jedno sočivo i složeni svjetlosni mikroskopi – koji imaju dva (objektiv i okular) ili više sočiva. Prostim mikroskopom – lupom se ne dobija potrebno uvećanje i jasnoća slike. Međutim, savremeni složeni mikroskopi uvećavaju sliku predmeta mnogo puta više i sa mnogo boljim razdvajanjem bliskih tačaka na predmetu (imaju bolju rezoluciju). Složeni mikroskop uveličava sliku u dvije etape: propuštanjem svjetlosti kroz posmatrani mikroorganizam, objektiv projektuje njegovu međusliku. Ovu međusliku dalje uveličava okular. Svjetlosni mikroskop omogućava određivanje oblika, veličine, boje, pokretljivosti, prisustvo kapsule i oblika za konzervaciju mikroorganizama, a kod krupnijih, kao što su gljive, alge i protozoe i izučavanje građe ćelije (slika 29).



SLIKA 29 – *Bacillus spp.*: vegetativne ćelije (štapićastog oblika) i spore (ovalnog oblika) (bojenje po Gramu, uvećanje 1000x)
(<https://www.fertnz.co.nz/bacillus>)

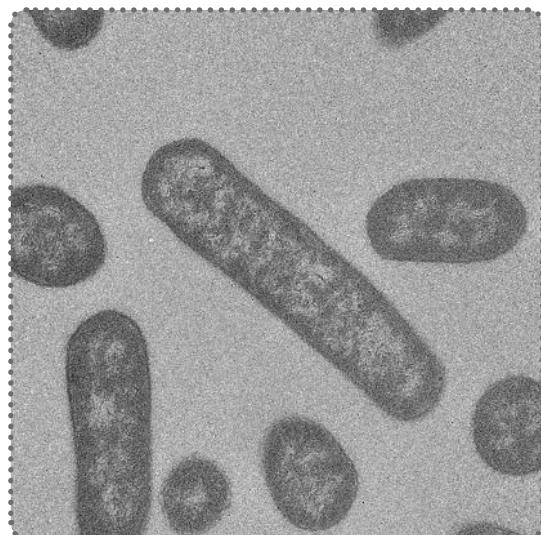
Zahvaljujući elektronском микроскопу, омогућено је детаљније прoučавање не само спољашњег изгледа, него и унутрашње структуре ћелија микроорганизама. **Skenirajuća elektronska mikroskopija** (SEM) дaje slikу површине објекта. Слику обликује детекцијом електрона који се одбијају од спољашње површине парепата и тако дaje утисак дубине, тродимензионалности (слика 30).



SLIKA 30 – *E. coli* (SEM)

(<https://www.microbiologyinpictures.com/bacteria-photos/escherichia-coliphotos/e.coli-bacteria-sem.html>)

Transmisiona elektronska mikroskopija (TEM) дaje slikу кроз објекат. Обликује slikу помоћу електрона који се пропуштају кроз парепат, па је тако могуће посматрати унутрашњу грађу микроорганизама (слика 31).



SLIKA 31 – *E. coli* (TEM)

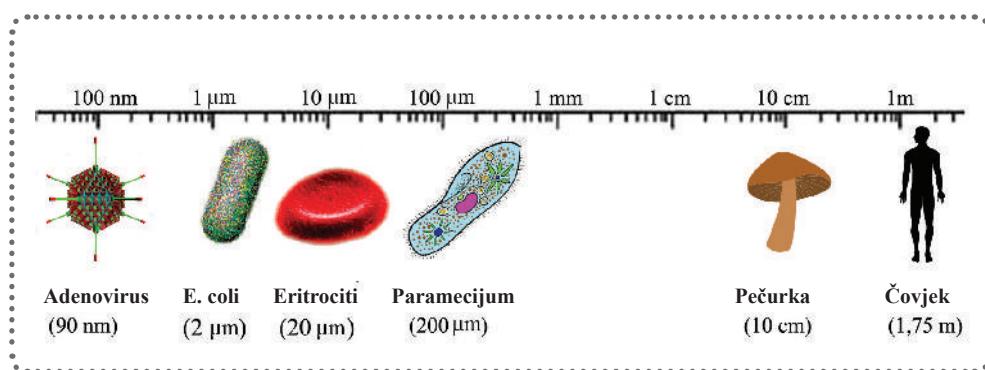
(https://figshare.com/articles/Internal_morphology_of_E._coli_cells_over-expressing_C._difficile_Eut_BMC_proteins/99788)

Rezolucija (razdvojna moć) predstavlja najmanje rastojanje između dvije tačke, pri kome se one raspoznaju kao razdvojeni objekti. Elektronski mikroskop ima oko 100 puta veću rezoluciju – razdvojnu moć od svjetlosnog mikroskopa (uveličava 100.000 puta).

VELIČINA MIKROORGANIZAMA

Mikroorganizmi se razlikuju po veličini (slika 32). Njihova veličina se mjeri mikrometrima i nanometrima. Veličina štapićastih bakterija određuje se mjerenjem dužine i širine, a loptastih mjerenjem prečnika. Prečnik većine loptastih mikroorganizama je oko $1 \mu\text{m}$. Prosječna dužina štapićastih bakterija je $1\text{--}5 \mu\text{m}$, a širina $0,5\text{--}1 \mu\text{m}$. Virusi su najslitniji mikroorganizmi i njihova veličina se kreće od 10 nanometara do nekoliko stotina nanometara.

Eukariotski mikroorganizmi (gljive, alge, protozoe) su krupniji od prokariotskih (prave bakterije i arheje). Veličina kvasaca (pripadaju gljivama) je $5\text{--}15 \mu\text{m}$, a protozoa $2\text{--}400 \mu\text{m}$. Kod končastih mikroorganizama (gljiva, algi) mjeri se širina ćelije i ona iznosi nekoliko mikrometara. Zapremina ćelije mikroorganizama je znatno manja u odnosu na njenu površinu, što omogućava da se metabolički procesi brzo odvijaju. Kad se zapremina poveća toliko da se preko površine više ne usvajaju dovoljne količine hranljivih materija, dolazi do diobe ćelije.



SLIKA 32 – Odnos veličina mikroorganizama

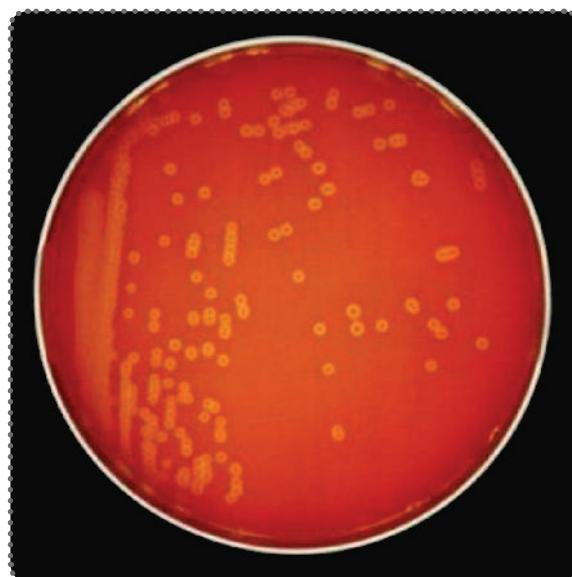
MORFOLOGIJA KOLONIJA MIKROORGANIZAMA

Da bi se mikroorganizmi mogli proučavati, moraju se izolovati **u čistoj kulturi**. Dobijanje čistih kultura mikroorganizama predstavlja osnovu mikrobiološkog rada. Čista kultura nekog mikroorganizma predstavlja potomstvo mikroorganizma nastalo ra-

zmnožavanjem jedne jedine ćelije. Potomstvo jedne ćelije nastalo njenim razmnožavanjem na čvrstoj hranljivoj podlozi (slike 33 i 34) stvara zajednicu ćelija – tvorevinu vidljivu golim okom koja se naziva **kolonija**. Određivanje morfoloških osobina kolonija predstavlja jedan od glavnih koraka u determinaciji mikroorganizama.

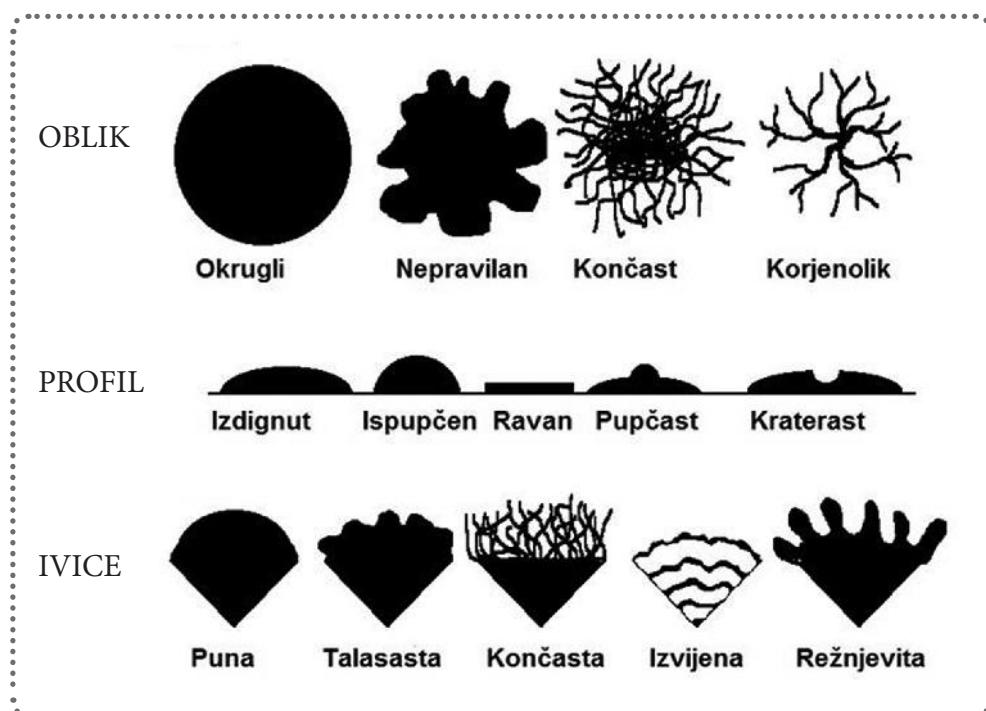


SLIKA 33 – Bakterijske kolonije na čvrstom agaru
(<https://sciencing.com/measure-bacterial-growth-petri-dishes-5837896.html>)



SLIKA 34 – Kolonije *Streptococcus agalactiae* na krvnom agaru
(http://atlas.sund.ku.dk/microatlas/food/bacteria/Streptococcus_agalactiae/streptagalbetagen1.jpg)

Oblik kolonija može biti tačkast, okrugao, končast, nepravilan, korjenolik, sočivast, ameboidan itd. **Profil kolonija** može biti ravan, ispupčen i udubljen. **Ivica kolonija** može biti ravna, talasasta, testerasta i končasta (slika 35).



SLIKA 35 – Različiti oblici, profili i ivice kolonija

Površina kolonija može biti glatka, sjajna i naborana. **Konzistencija kolonija** može biti sluzasta, zrnasta, praškasta, kompaktna itd. **Položaj kolonija** u podlozi može biti površinski i dubinski. Kolonije po veličini mogu biti: sitne (do 3 mm), srednje (do 5 mm) i krupne (preko 5 mm) u prečniku.

Boja kolonija može biti različita: bijela, žuta, crna, narandžasta, crvena, ružičasta, zelena, plava itd. (slike 36 i 37).



SLIKA 36 – Izgled različitih kolonija na hranljivom agaru
(<https://sciencebrewer.wordpress.com/tag/bacteria>)



SLIKA 37 – Dva tipa kolonija na hranljivom agaru
(*Micrococcus luteus* i *Escherichia coli*)
(<http://www.personal.psu.edu/faculty/k/h/khb4/enve301/301labs/lab4pureculture.html>)

OBLICI MIKROORGANIZAMA KOJI IMAJU ĆELIJSKU GRAĐU

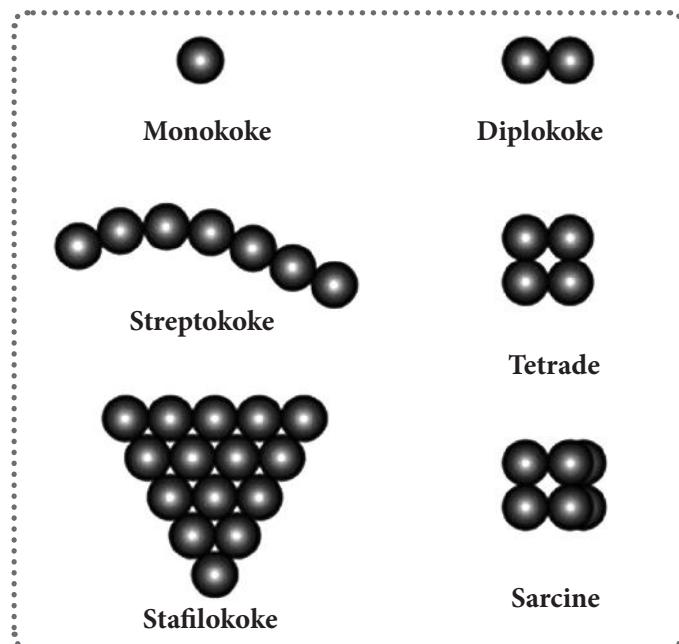
Mikroorganizmi se najčešće javljaju u četiri osnovna oblika: **okrugao, štapićast, izvijen (spiralan) i končast**. Pored ovih, postoje mikroorganizmi **zvjezdastog, kockastog i oblika rozete**. Okrugao, loptast oblik (koka) je najrasprostranjeniji oblik mikroorganizama, a zastupljen je kod bakterija, algi i gljiva. Štapićast oblik je zastupljen kod bakterija i algi. Izvijeni, spiralni oblik je naročito zastupljen kod bakterija. Končast oblik je zastupljen kod višećelijskih prokariotskih i eukariotskih mikroorganizama, a najčešće kod gljiva, algi, cijanobakterija, aktinomiceta, sumpornih i gvožđevitih bakterija.

OBLIK BAKTERIJA

Naziv bakterija potiče od grčke riječi *bakterion*, što znači štapić, palica i nastao je 1828. g., kada ga je prvi put upotrijebio njemački naučnik *Christian Gottfried Ehrenberg* (1795–1876).

OKRUGLE BAKTERIJE – KOKE

Koke, loptaste bakterije, doble su ime od grčke riječi *kókkos*, što znači zrno. Koke mogu biti sferične, elipsoidne, mahunaste i lancetaste. Dioba koka može da se vrši u jednoj, dvije, tri ili više ravni, tako da se dobijaju različite grupacije (slika 39). **Monokoke** su pojedinačni loptasti oblici koji nastaju poprečnom diobom ćelije na dvije odvojene ćelije kcerke. Kada nakon diobe, ćelije ostanu zajedno, tada nastaju **diplokoke** (dvije ćelije), **tetrakoke** (dva para ćelija), **sarcine** (paketici od osam ćelija), **streptokoke** (lanac), **stafilokoke** (grozd). Sarcine su paketići koji nastaju diobom koka u tri ravni pod pravim uglom. Stafilokoke nastaju diobom koka u više ravni pod različitim uglovima, pri čemu novonastale ćelije ostaju povezane u skupine izgleda grozda. Streptokoke nastaju diobom koka u jednoj ravni, pri čemu novonastale ćelije ostaju povezane u vidu lanca (slike 38 i 39).



SLIKA 38 – Zajednice koka nakon dijeljenja

(<http://svet-biologije.com/biologija/mikrobiologija/bakterije/bakterijska-celija>)



SLIKA 39 – *Streptococcus pneumoniae* (bojenje po Gramu, 1000x)

(<http://tonsilitisunderstood.blogspot.com/p/microbiological-causes-of-pharyngo.html>)

BAKTERIJE OBЛИКА ŠTAPIĆА

Bacili

Bakterije oblika štapića koje stvaraju spore (endospore) zovu se **sporogene bakterije** – bacili. Bacili obrazuju endospore bacilarnog tipa, koje ne mijenjaju oblik bakterijske ćelije. Dobili su ime prema latinskoj riječi *bacillus*, što znači štapić.

Štapićaste bakterije

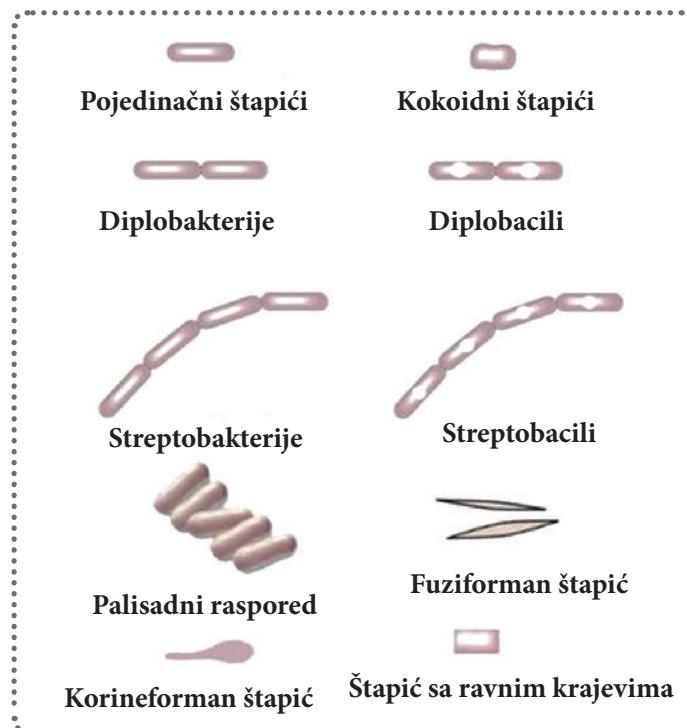
Bakterije oblika štapića koje ne obrazuju spore zovu se **asporogeni štapići** ili štapićaste bakterije. Mogu biti različitog oblika, veličine, širine i dužine. Takođe se mogu razlikovati prema obliku krajeva ćelije, kao i rasporedu ćelija. Mogu imati ravne, zaostrene i zaobljene krajeve. Neke štapićaste bakterije mogu biti proširene na jednom kraju, a sužene na drugom, tako da liče na buzdovan – **korineforman štapić** (slika 40).



SLIKA 40 – Izgled korineformnih štapića
(<http://www.bacteriainphotos.com/corynebacterium%20pseudotuberculosis.html>)

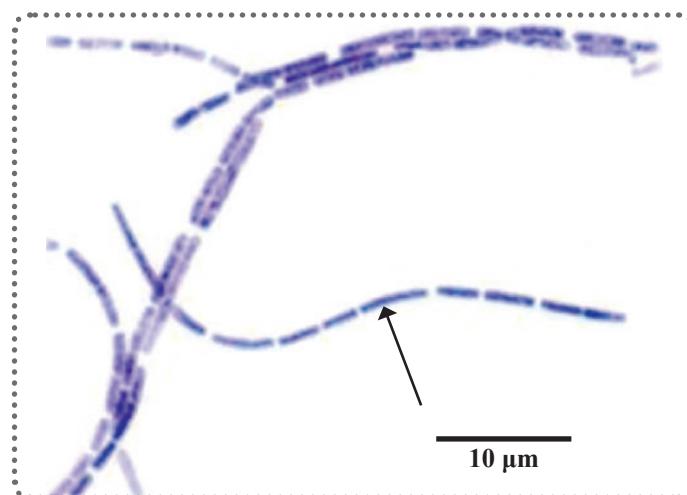
Neki štapići mogu biti toliko kratki, tako da izgledom podsjećaju na koke, pa se nazivaju **kokoidni štapići** (slika 41).

Štapićasti oblici bakterija mogu da stvaraju određene grupacije nakon diobe ćelija (slike 41 i 42). Ukoliko se štapićaste bakterije nakon diobe potpuno razdvoje, opisuju se kao **pojedinačni štapići**, odnosno **bacili** (ukoliko stvaraju spore). Štapići koji poslije diobe ostaju povezani u paru nazivaju se **diplobacili**, odnosno diplobakterije, a ako obrazuju lance zovu se **streptobacili** ili streptobakterije. Neke patogene štapićaste bakterije obrazuju skupine koje liče na palisade, razbacane šibice, prste na ruci ili formiraju oblike slične latiničnim slovima N, X, Y. Veći broj štapića spojenih širom stranom obrazuju **palisadni raspored** (palisade).



SLIKA 41 – Šematski prikaz zajednice štapićastih bakterija, odnosno bacila

(<http://svet-biologije.com/biologija/mikrobiologija/bakterije/bakterijska-celija>)

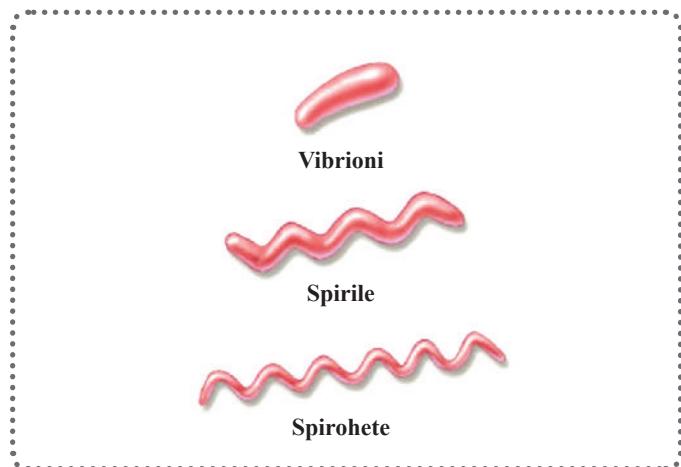


SLIKA 42 – *Streptobacilli*

(<http://faculty.ccbcmd.edu/courses/bio141/labmania/lab1/stbac.html>)

SPIRALNE (IZVIJENE) BAKTERIJE

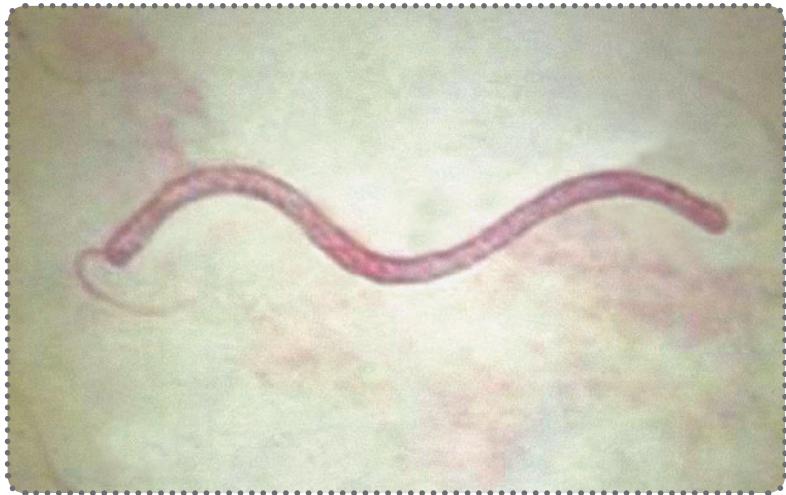
Bakterije koje imaju izgled zareza nazivaju se **vibrioni ili vibrio**. Bakterije kod kojih ćelija ima blage zavoje i podsjeća na slova U, S ili izgled „galebovih krila“ nazivaju se **spirile** (lat. *spira* – zavoj). **Spirohete** su dugačke i tanke ćelije sa velikim brojem (6–15 i više) malih zavoja (slike 43, 44, 45 i 46).



SLIKA 43 – Šematski prikaz različitih oblika spiralnih bakterija
(<http://svet-biologije.com/biologija/biologija-celije/celularni-oblici-zivota/bakterijska-celija>)



SLIKA 44 – Vibrio (bojenje po Gramu, 1000x)
(<https://pictures.doccheck.com/com/photo/17663-vibrio-comma>)



SLIKA 45 – *Spirilla*

(<http://www.daviddarling.info/encyclopedia/S/spirillum.html>)



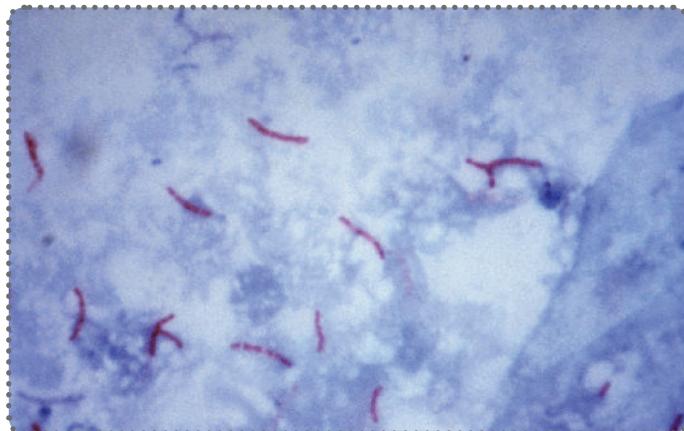
SLIKA 46 – *Borrelia burgdorferi* (spiroheta)

(posmatrano pod mikroskopom sa tamnim poljem)

(https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/f/f3/Borrelia_burgdorferi_%28CDC-PHIL_-6631%29_lores.jpg)

NITASTI I RAZGRANATI OBLICI BAKTERIJA

Zastupljeni su kod mikobakterija i aktinomiceta (slike 47 i 48).

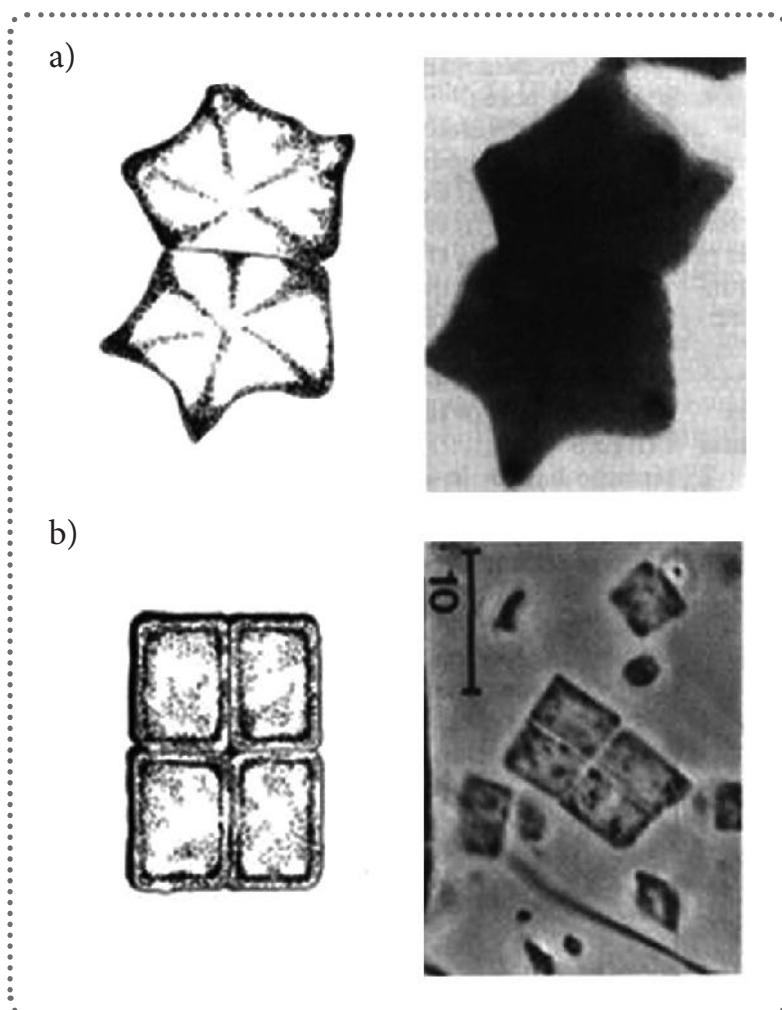


SLIKA 47 – *Mycobacterium tuberculosis*
(bojenje po Ziehl-Neelsenu, 1000x)
(https://en.wikipedia.org/wiki/Ziehl%20&%20Neelsen_stain)



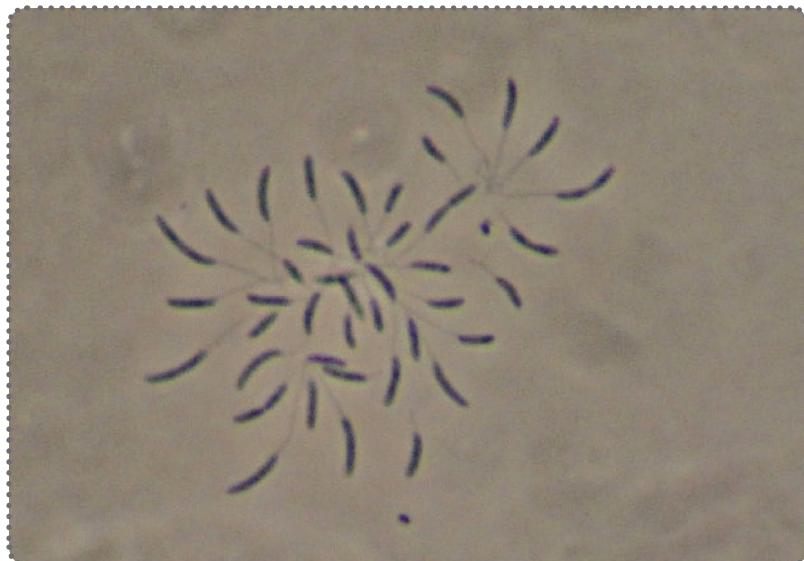
SLIKA 48 – *Actinomyces israelii* (bojenje po Gramu, 1000x)
(https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Actinomyces_israelii_NEUF2011)

Zvjezdast oblik imaju bakterije iz roda *Astra*. **Četvrtast oblik** imaju bakterije iz roda *Arcula* (slika 49).



SLIKA 49 – *Astra* (36.000x) – gornji red, *Arcula* (1700x) – donji red
(http://aulavirtual.usal.es/aulavirtual/demos/microbiologia/unidades/documen/uni_02/57/caphtm/cap0401.htm)

Oblik rozete (ruže) imaju bakterije iz roda *Caulobacter* (slika 50).



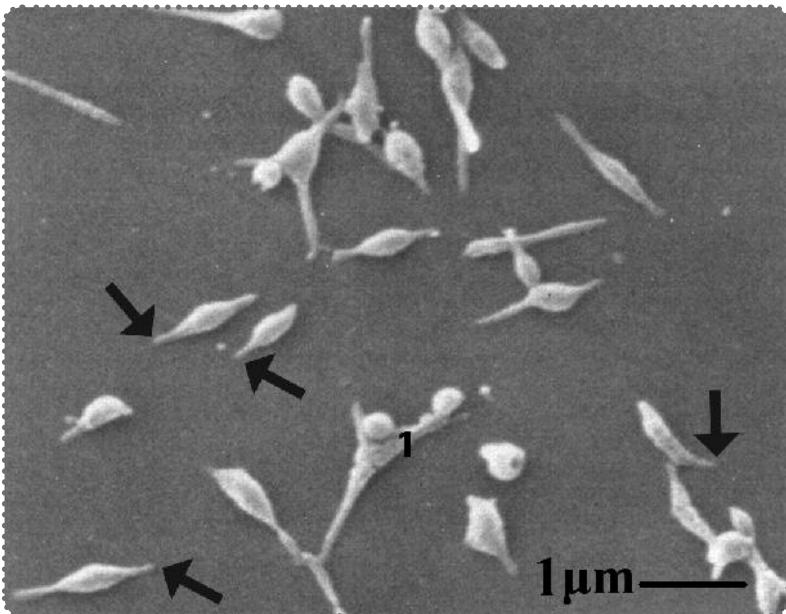
SLIKA 50 – *Caulobacter spp.*, izgled rozete (1000x)
(<http://microwunderkammer.blogspot.com/2011/02/most-beautiful-caulobacter-yet.html>)

PLEOMORFAN OBLIK BAKTERIJA

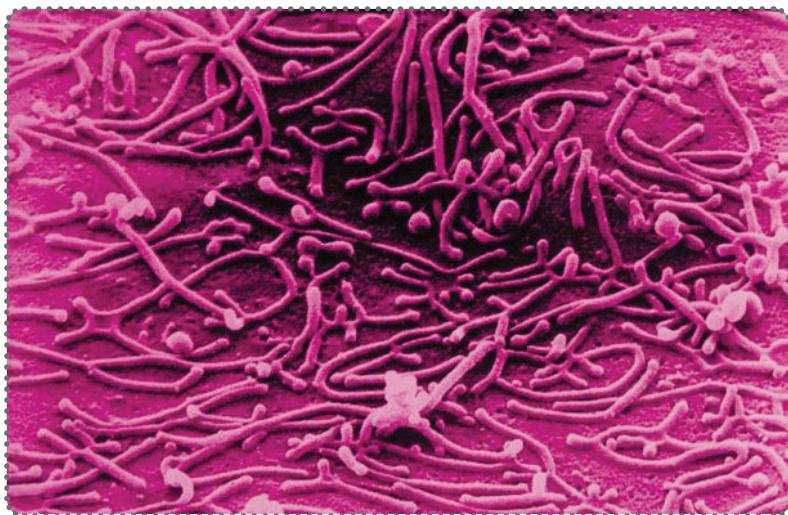
Pleomorfizam je svojstvo nekih bakterija da mijenjaju oblik **tokom različitih faza** životnog ciklusa. Ova pojava je karakteristična za sluzave bakterije, bakterije iz roda *Bacillus* i sluzave gljive.

POLIMORFAN OBLIK BAKTERIJA

Polimorfizam je svojstvo nekih vrsta bakterija da se **u istoj fazi** životnog ciklusa javljaju u različitim oblicima. On je posljedica nedostatka čelijskog zida kod nekih vrsta bakterija. Takav oblik imaju, npr. mikoplazme – oblik im varira od končastog do okruglog. Mogu se javiti u zvjezdastoj ili prstenastoj formi, u vidu razgranatih štapića ili nepravilnog oblika (slike 51 i 52).



SLIKA 51 – *Mycoplasma pneumoniae* (SEM)
(<https://cmr.asm.org/content/17/4/697>)

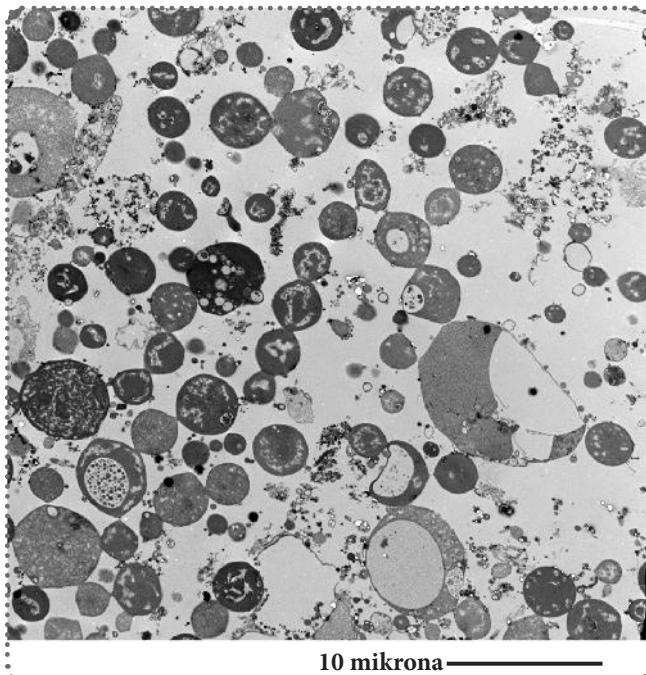


SLIKA 52 – *Mycoplasma pneumoniae* (SEM)
(<https://slideplayer.com/slide/4801449>)

INVOLUCIONI OBLICI BAKTERIJA

Oblik i veličina bakterija mogu da se mijenjaju i zavisno od starosti kulture, sastava sredine, temperature i drugih faktora. U pogledu veličine najmanje se mijenjaju koke, dok su štapićaste bakterije nešto promjenljivije, pri čemu im se naročito mijenja dužina. Štapićaste bakterije se mogu izduziti u vidu konca ili im zadebljavaju krajevi. Pod uticajem nepovoljnih uslova spoljašnje sredine, dejstva antibiotika, pesticida i drugih otrovnih materija, mikroorganizmi mogu potpuno da promijene svoj oblik. Ti oblici mogu biti **nepravilni, naduveni, razgranati, okrugli, ameboidni, kruškasti** i dr. i nazivaju se involucioni oblici. Takve ćelije imaju poremećen metabolizam, nemaju sposobnost razmnožavanja i samo se mali broj u povoljnim uslovima može vratiti u normalno stanje. Involucioni oblici mogu da se pojave i sa starošću ćelije. Ukoliko su bakterije dejstvom spoljašnjih uticaja u potpunosti ostale bez ćelijskog zida (obično pod dejstvom antibiotika), ti oblici se nazivaju **L-oblici (protoplast, slika 53)**. Naziv su dobili po Listerovom institutu, na kojem su prvi put otkriveni. Kod takvih oblika ne dolazi do ćelijske diobe.

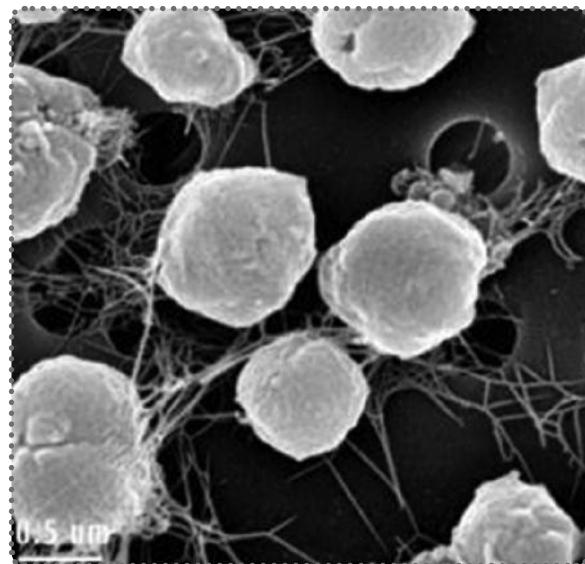
Ukoliko bakterijska ćelija posjeduje ostatke ćelijskog zida (ćelijski zid je nepotpun), taj oblik se zove **sferoplast**. Sferoplast može da se dijeli, ali su kćerke ćelije nepravilnog, promijenjenog oblika.



SLIKA 53 – L forme Bacillus subtilis (TEM)
(https://en.wikipedia.org/wiki/L-form_bacteria)

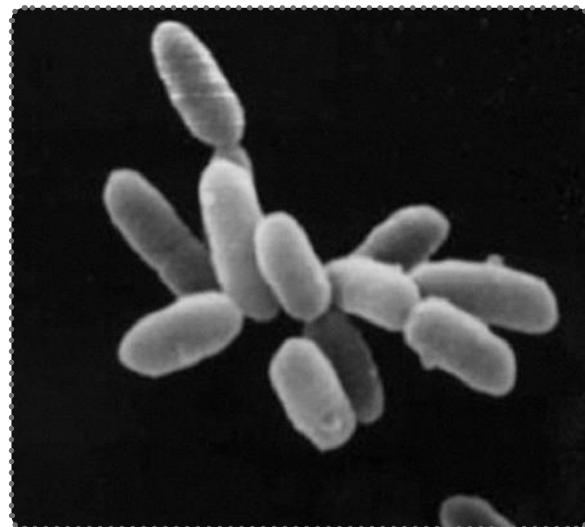
OBLIK ARHEJA

Oblik arheja može biti: **okrugao, štapićast, izvijen, polimorfan** (slike 54, 55 i 56).



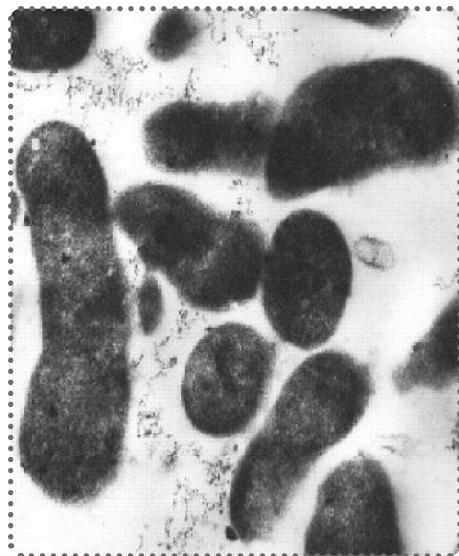
SLIKA 54 – *Methanococcus* (SEM)

(https://microbewiki.kenyon.edu/images/thumb/2/22/Methanococcus_6.gif/300px-Methanococcus_6.gif)



SLIKA 55 – *Halobacterium* (SEM)

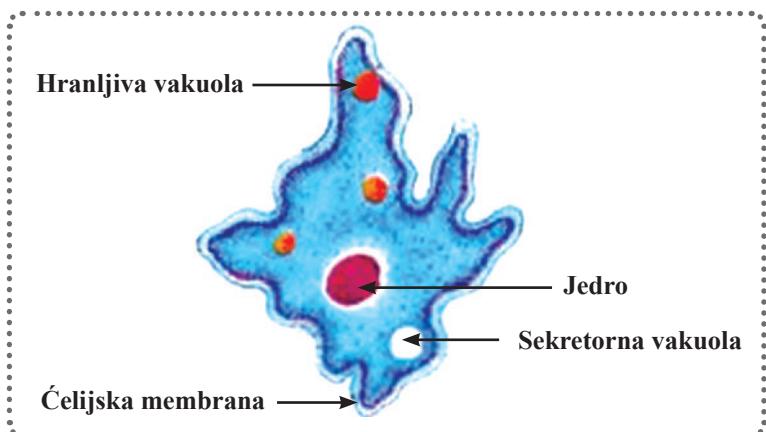
(<https://en.wikipedia.org/wiki/Halobacterium>)



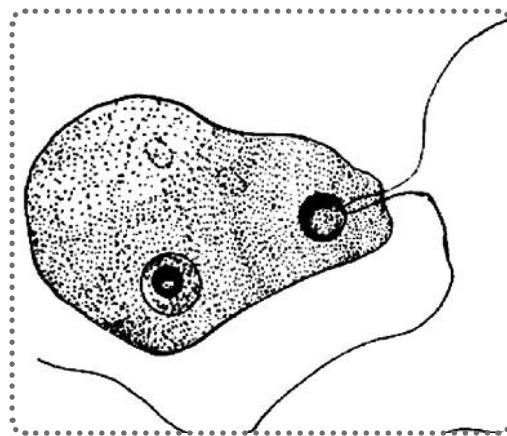
**SLIKA 56 – *Ferroplasma acidarmanus*
(TEM, polimorfne)**
(<https://aem.asm.org/content/70/4/2079/figures-only>)

OBLIK PROTOZOA

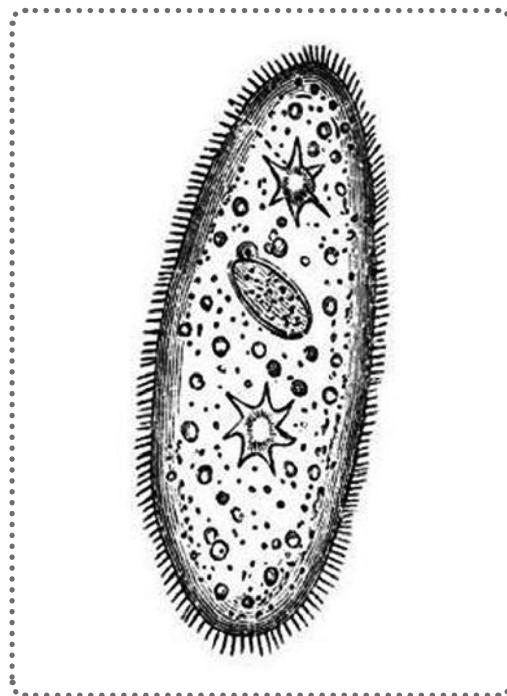
Vegetativne ćelije nekih protozoa su konstantnog izgleda (**okruglaste, ovalne, vretenaste ili srpaste**), dok je kod drugih ovaj oblik **promjenljiv**. Ovo zavisi od strukture ektoplazme, prisustva ili odsustva čvrstog omotača i dr. (slike 57, 58 i 59). (Ektoplazma je spoljašnji, gušći, a endoplazma unutrašnji, rastresitiji sloj citoplazme).



SLIKA 57 – Šematski prikaz amebe
(<http://nemaplex.ucdavis.edu/images/protozoa1.gif>)



SLIKA 58 – Šematski prikaz bičara
(<http://nemaplex.ucdavis.edu/images/protozoa1.gif>)



SLIKA 59 – Šematski prikaz trepljara (TEM)
(<https://chestofbooks.com/animals/Manual-Of-Zoology/I-Order-Ciliata.html>)

OBLIK PLIJESNI

Vegetativne ćelije plijesni imaju **končasti oblik** i zovu se **hife**. Hifa (*hypha*) je osnovna ćelija plijesni (višećelijskih gljiva). Ona je izdužena cijev, prečnika 1–10 μm , ispunjena protoplazmom i ostalim sastavnim djelovima ćelije. Hife mogu biti bezbojne ili obojene u raznim tonovima žute, smeđe, zelene ili crne boje. Mogu biti bez pregrada, **neseptirane** (*hyphae nonseptate*) (slika 60), ili **septirane**, sa poprečnim pregradama – septama (*hyphae septate*) (slika 61). Na septama se nalaze **otvori** koji omogućavaju komunikaciju između pregradenih djelova hife.



SLIKA 60 – Neseptirane hife

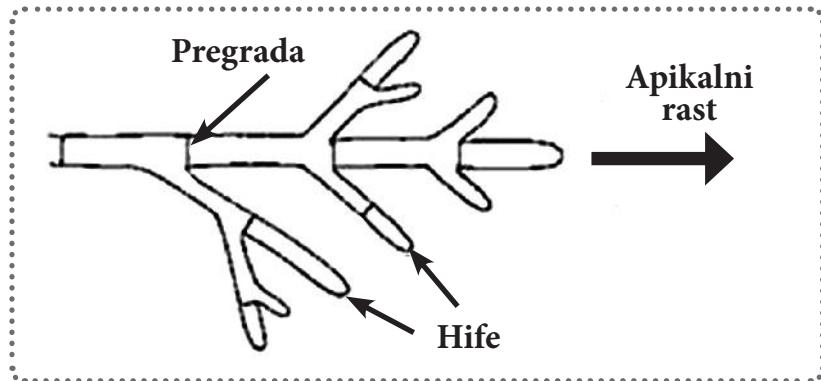
(<https://airfreshener.club/quotes/hyphae-septate-fungi-examples.html>)



SLIKA 61 – Septirane hife

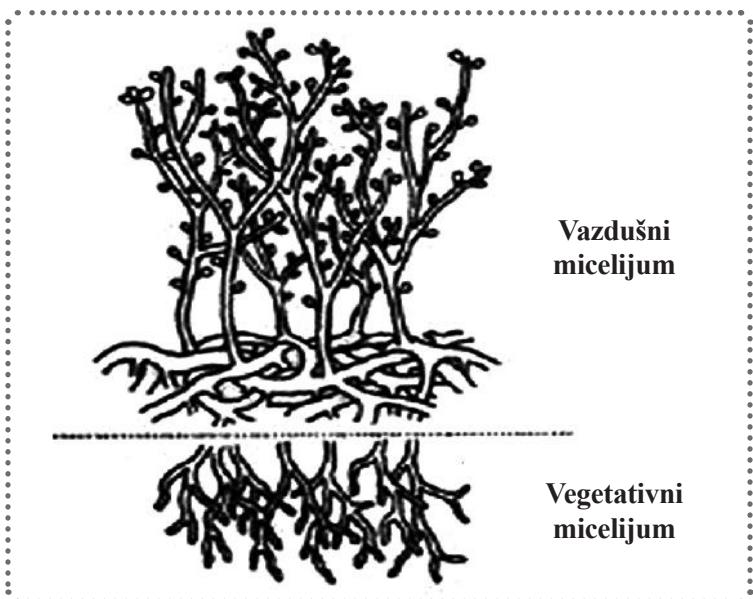
(<https://classconnection.s3.amazonaws.com/239/flashcards/903239/jpg/hyphae1335304137669.jpg>)

Hife nastaju iz spora klijanjem i rastu apikalno – od vrha (slika 62).

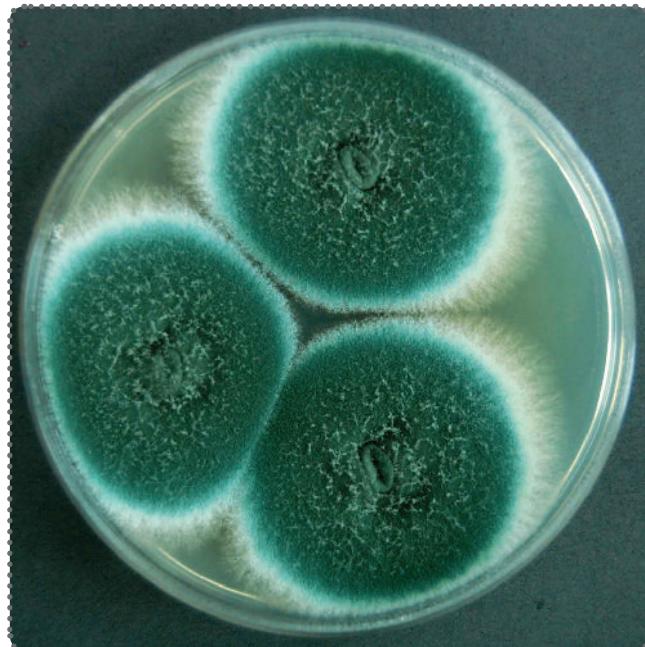


SLIKA 62 – Smjer rasta hife – vrhom

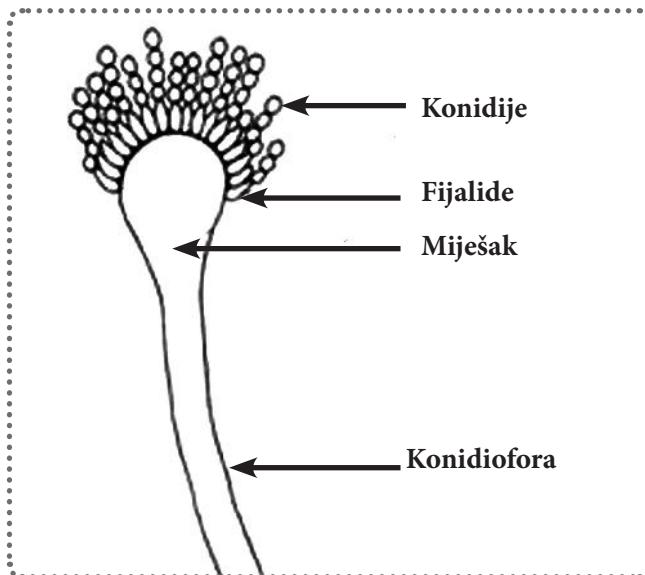
Micelijum (mycelium) predstavlja splet hifa. Razlikuju se dva micelijuma. Jedan se nalazi na podlozi na kojoj gljiva raste i prodire u nju. On služi gljivi za primanje hrane iz okoline. Naziva se **bazalni, vegetativni** ili substratni micelijum. Drugi micelijum se diže u vazduh, iznad podloge na kojoj gljiva raste. To je **vazdušni micelijum** (slika 63). Ako vazdušni micelijum stvara reproduktivne organe, naziva se **reproaktivni micelijum** (slike 64, 65 i 66).



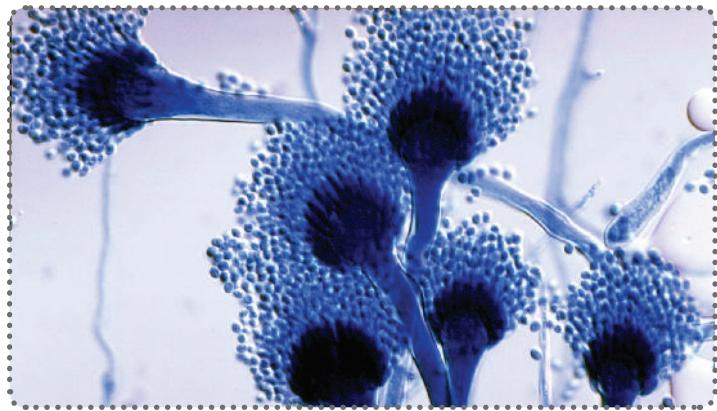
SLIKA 63 – Šema vazdušnog i vegetativnog micelijuma pljesni



SLIKA 64 – Micelijum pljesni *Aspergillus fumigatus*
(<http://fungi.myspecies.info/taxonomy/term/4987/media>)



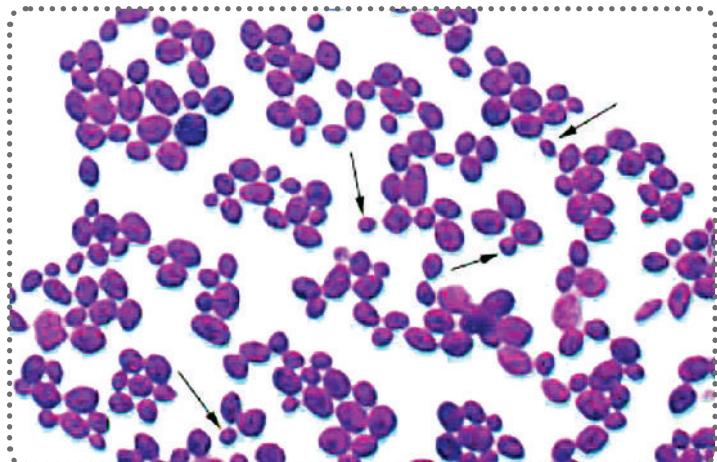
**SLIKA 65 – Šema građe
reprodukтивne hife pljesni *Aspergillus fumigatus***



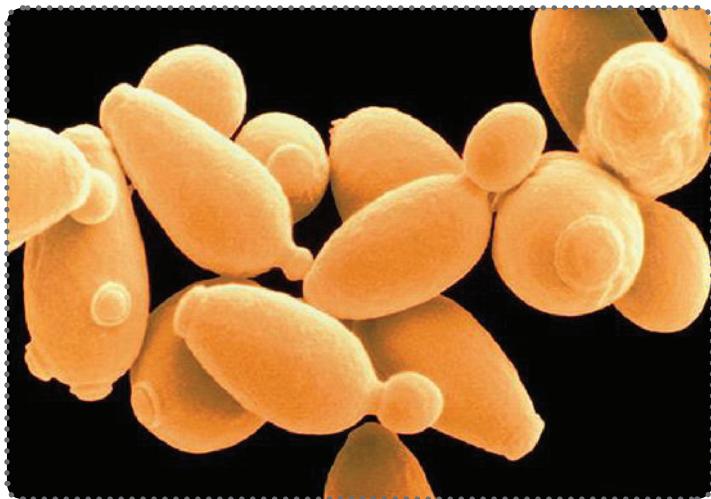
SLIKA 66 – Reproduktivne hife *Aspergillus fumigatus*
(https://classconnection.s3.amazonaws.com/187/flashcards/514187/jpg/a_fumigatus_s1349485609109.jpg)

OBLIK KVASACA

Ćelije jednoćelijskih gljiva, odnosno kvasaca najčešće su **okrugle, ovalne ili poput cigare izdužene ćelije**, koje se razmnožavaju diobom ili pupljenjem (slike 67 i 68).



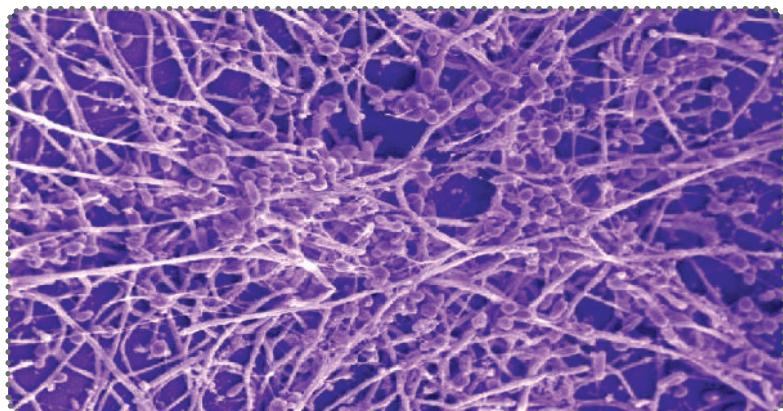
SLIKA 67 – *Saccharomyces cerevisiae* (1000x)
(<http://faculty.ccbcmd.edu/courses/bio141/labmanual/lab1/u1yeast.html>)



SLIKA 68 – *Saccharomyces cerevisiae* (SEM)

(<https://pixels.com/featured/9-saccharomyces-cerevisiae-scimat.html>)

Tokom razmnožavanja kvasaca, ukoliko ćelija kćerka ostaje u zajednici sa ćelijom majkom, formiraju se izdužene tvorevine koje liče na hife, pa se zovu **pseudohife**. Splet razgranatih pseudohifa obrazuje pseudomicelijum (slike 69 i 70).



SLIKA 69 – *Candida albicans*, pseudohife (SEM)

(<https://phys.org/news/2015-11-candida-albicans-mysterious-fungus-major.html>)



SLIKA 70 – *Candida albicans*, pseudohife (1000x)

(<http://www.ginekomedika.rs/ginekologija/polno-prenosive-bolesti/candida-albicans>)

OBLIK ALGI

Alge prema obliku mogu biti **okrugle, končaste, štapićaste, zvjezdaste i raznih drugih oblika** (slika 71). Mogu biti jednoćelijske i višećelijske, pojedinačne i kolonijalne. Alge su fotosintetički eukariotski mikroorganizmi. U svojoj ćeliji sadrže hlorofil, a neke pored hlorofila sadrže i dopunske pigmente. Kolonije su manji ili veći kompleksi promjenljivog broja ćelija, koje su u morfološkom i fiziološkom pogledu samostalne i nezavisne. Nastaju tako što jednoćelijski organizmi nakon diobe grade kompleksne različitog oblika i veličine. Vegetativno tijelo algi se zove **talus**. Talus algi je različite veličine, od nekoliko mikrometara do više desetina metara. Njihovo tijelo, bez obzira na složenost građe, nikada nije diferencirano na stablo, korijen i list.



SLIKA 71 – Različiti oblici algi

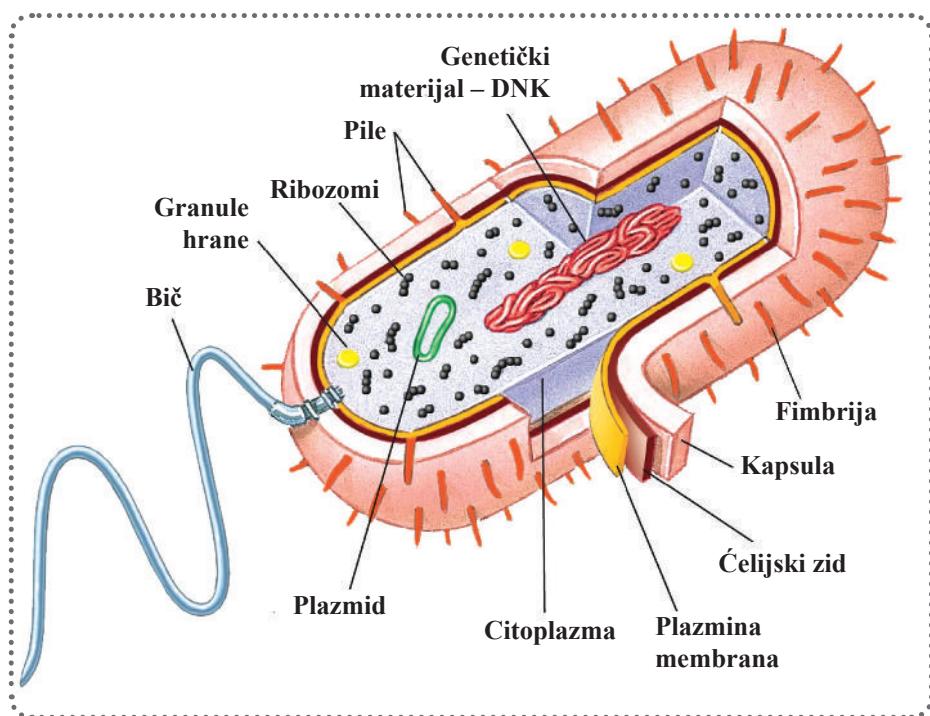
(<http://www.lakesuperiorstreams.org/understanding/algae.html>)

GRAĐA ĆELIJE MIKROORGANIZAMA

Prema gradićelije, mikroorganizme dijelimo na prokariote i eukariote. Prokariotima pripadaju **bakterije i arheje**, a eukariotima **alge, gljive i protozoe**. Bakterije, arheje i prototozoe su jednoćelijski, dok su alge i gljive jednoćelijski ili višećelijski mikroorganizmi.

GRAĐA PROKARIOTSKIH MIKROORGANIZAMA

Prokariotski mikroorganizmi su jednoćelijski i njihove ćelije su jednostavnije grade u poređenju sa eukariotskim ćelijama. Ćelija se sastoji od ćelijskih omotača, citoplazme, primitivnog jedra – *nucleoida* (jedrove supstance) i raznih inkluzija, odnosno granula. Od unutarćelijskih organela ograničenih membranama imaju **samo ribozome i mezozome**. Neke vrste imaju sposobnost stvaranja spora i kapsule. Bakterije koje se kreću imaju bićeve (flagele). Neke bakterije imaju fimbrije, niti koje im služe za pričvršćivanje. Mogu posjedovati i pile, niti koje im služe za razmjenu genetičkog materijala (slika 72).



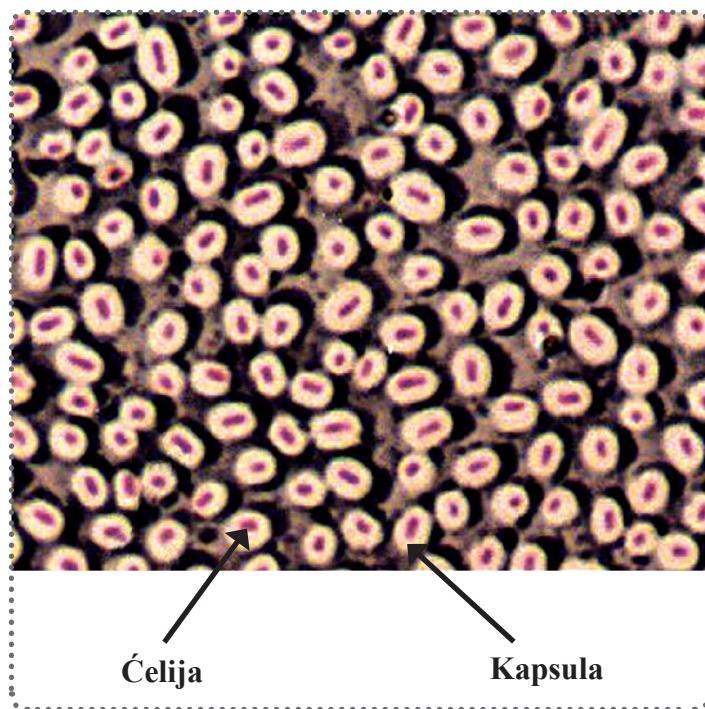
SLIKA 72 – Šematski prikaz građe prokariotske ćelije

OMOTAČI PROKARIOTSKE ĆELIJE

Bakterijske ćelije imaju tri omotača: citoplazmatsku membranu, ćelijski zid i kapsulu.

Kapsula

Kapsula je omotač koji stvaraju neke bakterije pod uticajem izvjesnih faktora sredine (slike 73 i 74). Tada se na površini tih mikroorganizama skuplja sluzava materija, koja se, ako je rastresita, naziva sluzavi omotač, a ako je gusta i čvrsta, kapsula. Ovu svoju osobinu obično ispoljavaju kada rastu u hranljivim sredinama sa visokim sadržajem ugljenih hidrata ili proteina. Neke od bakterija koje stvaraju kapsulu su: *Streptococcus pneumoniae*, *Bacillus anthracis*, *Clostridium perfringens*, *Klebsiella pneumoniae*, *Leuconostoc*. Zavisno od bakterijske vrste, kapsula može biti različite debljine i konzistencije. Makrokapsula je debljine veće od $0,2 \mu\text{m}$, a mikrokapsula debljine manje od $0,2 \mu\text{m}$. Kod nekih mikroorganizama makrokapsula je nekoliko puta deblja od ćelije. Kapsula je dobro organizovana i ne može se lako odstraniti. Sastoji se iz vode, polisaharida i, rjeđe, proteina. S obzirom na to da sadrži do 98% vode, predstavlja dopunsku osmotsku barijeru.



**SLIKA 73 – Kapsula – neobojena,
svijetla zona oko bakterijske ćelije**

(<https://microbeonline.com/bacterial-capsule-structure-and-importance-and-examples-of-capsulated-bacteria>)

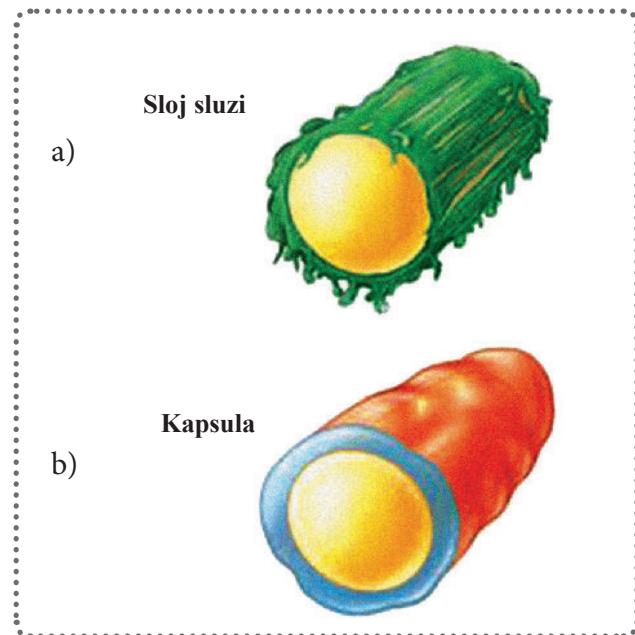


**SLIKA 74 – Sluzave kolonije bakterije
Klebsiella pneumoniae (rast na MacConkey agaru)**
(<https://deskgram.net/explore/tags/klebsiellapneumoniae>)

Uloga kapsule je mnogostruka: štiti ćeliju od mehaničkih povreda, dejstva toksičnih materija, radijacije, isušivanja, napada drugih mikroorganizama, fagocitoze, kao i od nepovoljnih uslova spoljašnje sredine. Pomaže mikroorganizmu da se pričvrsti za neki supstrat. Daje antigena i serološka svojstva mikroorganizmima.

Sluz

Mikroorganizmi ponekad stvaraju samo sluzasti sloj (slika 75). On predstavlja difuznu, labilno povezanu materiju koja se lako odstranjuje od ćelije. Zahvaljujući njemu, ćelije mikroorganizama mogu da se povezuju i da stvaraju biofilmove. Kao i kapsula, sastoji se iz vode, polisaharida i proteina.



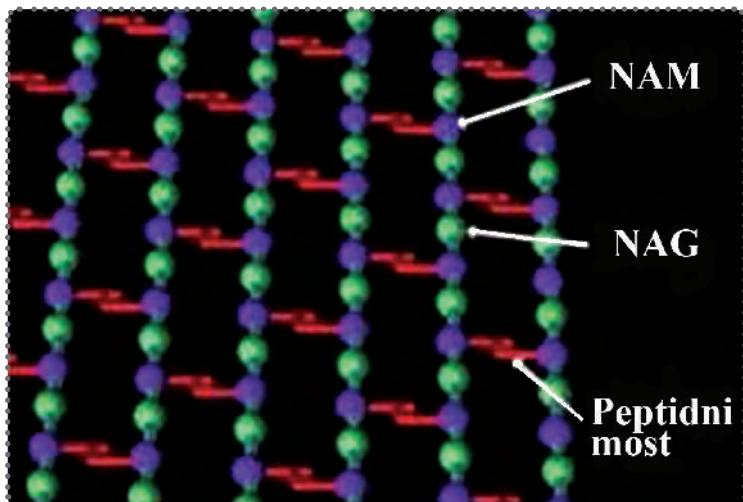
**SLIKA 75 – a) Sluzasti sloj oko bakterijske ćelije;
b) Kapsula oko bakterijske ćelije**

S-omotač

Ovaj omotač posjeduju **arheje** (*Archaea*), kod kojih često predstavlja jedini sloj oko citoplazmine membrane i ima ulogu ćelijskog zida. Kod gram negativnih arheja ovaj omotač se naslanja na citoplazminu membranu, a kod gram pozitivnih na ćelijski zid. S omotač štiti ćeliju od promjene pH sredine, promjene osmotskog pritiska, enzima i sl. S omotač se takođe sastoji iz vode, polisaharida i proteina.

Ćelijski zid

Ćelijski zid je spoljašnji omotač ćelije koji se nalazi oko citoplazmine membrane. Njegova građa je veoma složena i razlikuje se kod gram pozitivnih i gram negativnih bakterija. Glavnu komponentu ćelijskog zida čini **peptidoglikan (murein)**, supstanca nađena samo kod bakterija. Peptidoglikan se sastoji od paralelnih lanaca naizmjenično ugrađenih monomera aminošećera N-acetil glukozamina i N-acetil muraminske kisjeline vezanih beta 1–4 glikozidnim vezama. Ovi lanci su vezani poprečnim mostovima od tetrapeptida (slika 76).



SLIKA 76 – Šematski prikaz gradi peptidoglikana

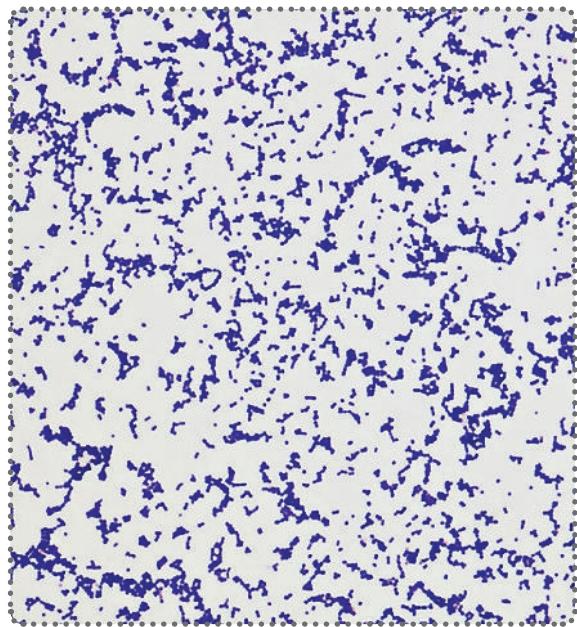
Tetrapeptid je građen od različitih D i L aminokisjelina, u zavisnosti od vrste bakterija. U sastav tetrapeptida gram negativnih bakterija najčešće ulaze L i D alanin, D glutaminska i diaminopimelinska kiselina. Diaminopimelinska kiselina se nalazi jedino u čelijskom zidu bakterija. Kod gram pozitivnih bakterija se umjesto mezo-diaminopimelinske kiseline nalazi L lizin. Kod nekih gram pozitivnih bakterija (npr. *Bacillus subtilis*) ima oko 40 slojeva, dok, na primjer, gram negativna bakterija *E. coli* ima samo jedan sloj peptidoglikana u čelijskom zidu.

Čelijski zid ima višestruki značaj za čeliju: daje čeliji oblik i čvrstinu, štiti je od mehaničkih i drugih nepovoljnih uticaja spoljne sredine, ima antigena svojstva.

Grada čelijskog zida prokariota se razlikuje od gradi čelijskog zida eukariota. Kod prokariota (osim mikoplazmi i arheja) čelijski zid je čvrst i elastičan. Murein je građen iz polisaharidnog i peptidnog dijela.

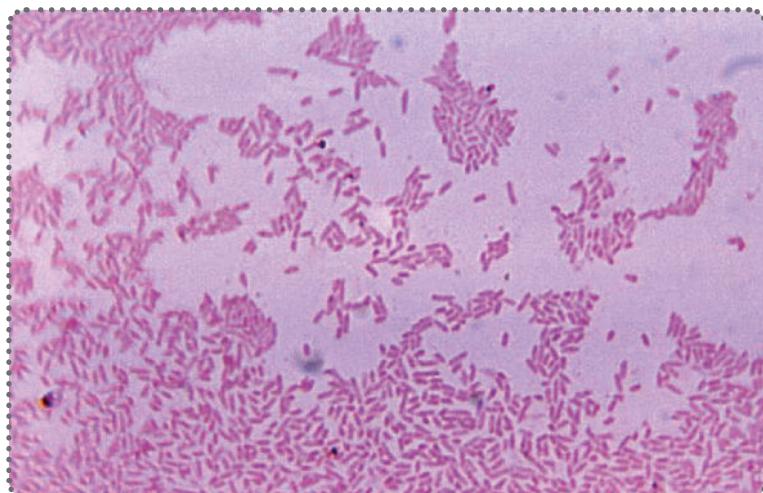
Na osnovu gradi čelijskog zida i bojenja po Gramu (Christian Gram, 1884), bakterije su podijeljene u dvije velike grupe: gram pozitivne i gram negativne.

Gram pozitivne bakterije se boje **ljubičasto** (slika 77), a gram negativne bakterije **crveno ili roze** (slika 78).



SLIKA 77 – Gram pozitivne koke (1000x)

(<https://www.gettyimages.com/detail/photo/gram-positive-bacteria-gram-positive-high-res-stock-photography/128554736>)



SLIKA 78 – Gram negativne štapićaste bakterije (1000x)

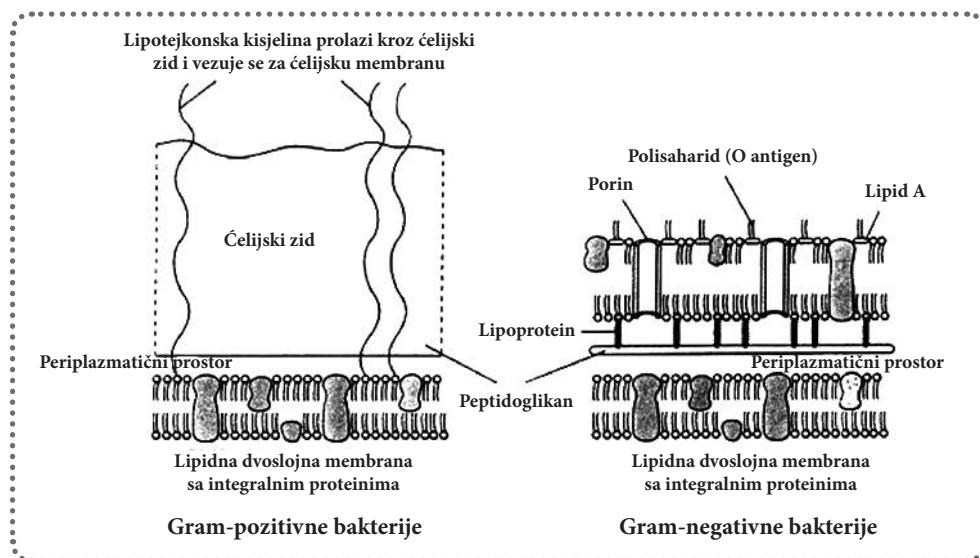
(<http://yourweeklymicrobe.blogspot.com/2012/12/e-coli.html>)

Ćelijski zid gram pozitivnih bakterija

Ćelijski zid gram pozitivnih bakterija je homogene strukture. Sastoji se od veće količine **mureina** koji čini 50–90% ukupne mase ćelijskog zida. Debljina ovog sloja je 20–80 nm. Pored mureina, u ćelijskom zidu ovih bakterija nalaze se i drugi sastojci, među kojima najveći dio zauzima **tejkonska (tejhoina) kiselina**. Tejkonska kiselina je polimer glicerola ili ribitola međusobno povezanih fosfatnim grupama. Ispod ćelijskog zida nalazi se **periplazmatični prostor** koji je popunjen periplazmom. Kod gram pozitivnih bakterija periplazmatični prostor je mali (slika 79).

Ćelijski zid gram negativnih bakterija

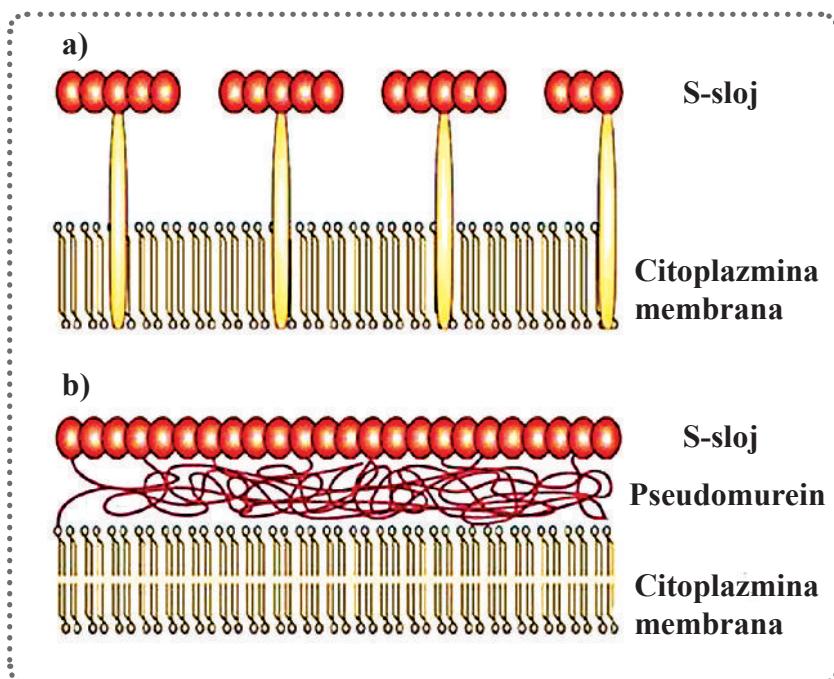
Ćelijski zid gram negativnih bakterija je složenije građe. Sastoji se iz: **spoljne membrane, mureina i periplazmatičnog prostora** (slika 79). Spoljna membrana je izgrađena od **lipopolisaharida** koji su prožeti molekulima specifičnih proteina, tzv. **porin–proteina**. Ova membrana štiti ćeliju od toksičnih materija. Murein je debljine 2–7 nm i čini 5–10% ukupne mase ćelijskog zida. Najčešće je jednoslojan, ponekad dvoslojan. Sa spoljnom membranom murein je povezan pomoću lipoproteina. Na taj način spoljna membrana i murein grade ćelijski zid. Periplazmatični prostor je ispunjen periplazmom. U periplazmi se nalaze enzimi koji učestvuju u sintezi mureina, hidrolitički enzimi i proteini koji učestvuju u transportu materija u ćeliji. U slučaju razgradnje ćelijskog zida, sadržaj ćelije okružen samo citoplazmatskom membranom dobija loptast oblik. Tako zaokrugljena ćelija naziva se protoplast (L–oblik), a ako zid nije potpuno razgraden – sferoplast.



SLIKA 79 – Šematski prikaz građe ćelijskog zida gram pozitivnih i gram negativnih bakterija

Ćelijski zid arheja

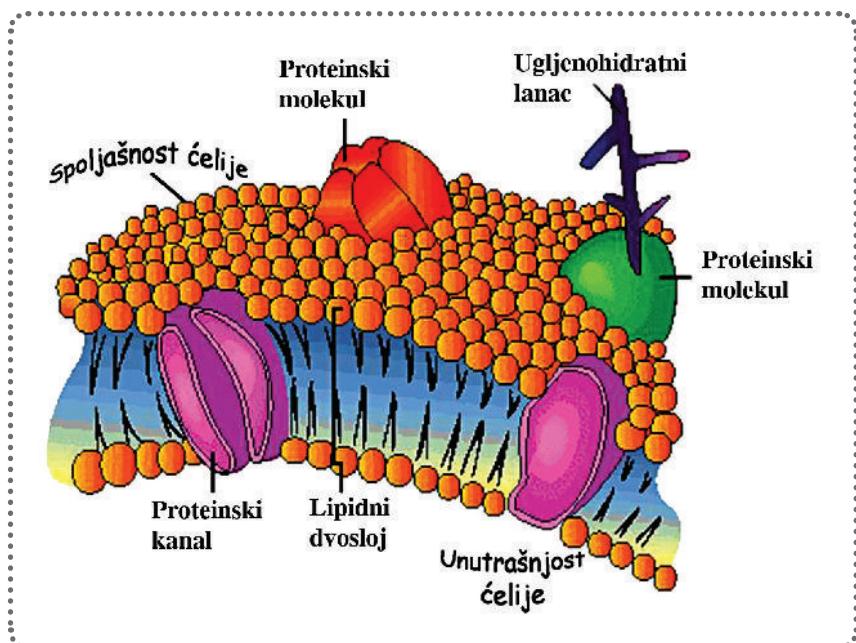
Arheje se po gradi ćelijskog zida razlikuju od ostalih prokariota. Ćelijski zid gram pozitivnih arheja je građen uglavnom od **pseudomureina**, a kod gram negativnih od **proteina ili glikoproteina** (slika 80). Pseudomurein se razlikuje od mureina po tome što sadrži N acetil talosaminuronsku kisjelinu umjesto N acetil muraminske kisjeline, vezanu za N acetil glukozamin β 1,3 umjesto β 1,4 glikozidnim vezama; od mureina se razlikuje i po tome što umjesto D aminokiselina sadrži L aminokiselina. Kod nekih arheja se u ćelijskom zidu može naći polisaharid hondroitin. Enzim lizozim koji razgraduje murein – i tako uništava bakterije ne može da razgradi pseudomurein, zato što ne kida β 1,3, već samo β 1,4 glikozidne veze. Zahvaljujući prisustvu L aminokiselina u ćelijskom zidu, arheje su otporne na dejstvo antibiotika kao što su D-cikloserin, vankomicin, penicilin; ovi antibiotici interagiju sa D alaninom u ćelijskom zidu bakterija.



SLIKA 80 – Građa ćelijskog zida arheja: a – gram negativnih arheja, b – gram pozitivnih arheja

Citoplazmatska membrana (citoplazmina membrana, plazmalema)

Citoplazmatska membrana se nalazi ispod ćelijskog zida i obavlja citoplazmu, odnosno protoplast ćelije. Veoma je tanka, debljine 5–10 nm i vidi se samo elektronskim mikroskopom. Kod prokariotskih mikroorganizama pravi **invaginacije – uvrnuća** u unutrašnjost ćelije u vidu džepova koji se zovu **mezozomi**. Kod eukariotskih ćelija povezana je sa endoplazmatičnim retikulumom i drugim organelama u ćeliji. Citoplazmatska membrana je polupropustljiva. Ima funkciju **osmotske barijere** i tako reguliše razmjenu materija sa ćelijom. Kod prokariota se u njoj obavlja **disanje, fotosinteza, sinteza lipida, sinteza sastojaka ćelijskog zida i kapsule itd.** U njoj su smješteni specijalni receptori za prepoznavanje hemijskih jedinjenja u okolini ćelije. Zahvaljujući sistemu permeaza, ona omogućava ulazak specifičnih većih molekula u ćeliju. Citoplazmina membrana se sastoji od **lipida i proteina**. **Periferni proteini** su labavo vezani za membranu, rastvorljivi su i lako se odstranjuju. Oko 70–80% proteina su integralni proteini, koji nisu rastvorljivi u vodi i teško se odstranjuju. **Integralni proteini** su hidrofobnim krajem uronjeni u lipidni dvosloj, a hidrofilnim izlaze na površinu membrane. Lipidi čine centralni dio citoplazmine membrane i najvećim dijelom su građeni od **fosfolipida**. Polarni hidrofilni krajevi fosfolipida okrenuti su prema sredini i reaguju međusobno. Arheje, za razliku od drugih mikroorganizama, imaju samo jedan sloj lipida (slika 81).



SLIKA 81 – Šematski prikaz građe ćelijske membrane prokariota

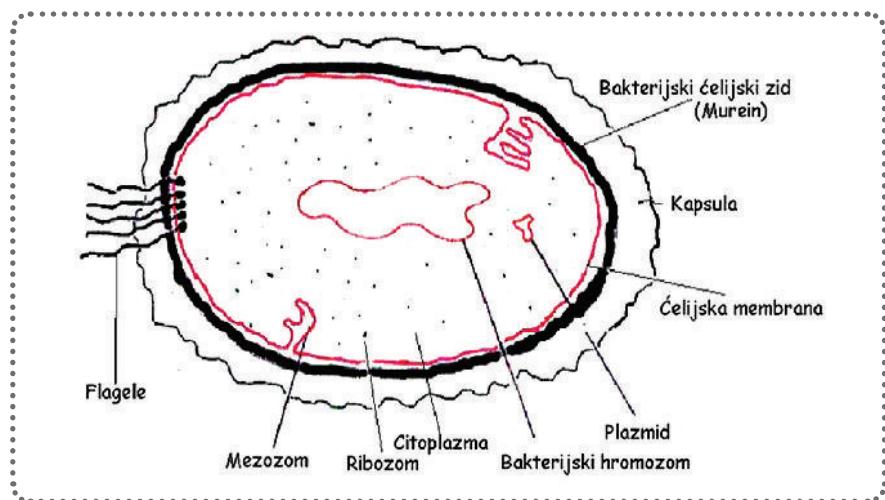
Citoplazma

Citoplazma mikroorganizama je koloidna mješavina vode, proteina, ugljenih hidrata, lipida i mineralnih materija, u kojoj se, zavisno od vrste, nalaze različite ćelijske strukture i organele. Za razliku od eukariotskih ćelija, citoplazma bakterija sadrži i visoku koncentraciju RNK, naročito u nukleoidnoj regiji. Citoplazma, zajedno sa organelama i ostalim strukturama uronjenim u njoj predstavlja protoplast. Citoplazma zajedno sa primitivnim jedrom čini **protoplazmu**.

Ćelijske organele

Mezozomi

Mezozomi su ulegnuća, uvrnuća citoplazmine membrane u obliku vezikula, tubula i lamela (slika 82).



SLIKA 82 –Šematski prikaz bakterijske ćelije sa mezozomom

Nalaze se u ćelijama gram pozitivnih i gram negativnih bakterija, ali su razvijenije kod gram pozitivnih bakterija. U njima se vrši biosinteza gradivnih elemenata ćelije, razgradnja hranljivih materija, disanje, oksidativna fosforilacija i fotosinteza. Mezozomi u kojima se vrši oksidativna fosforilacija su **analogni mitohondrijama** kod eukariota. Imaju izgled granule, u čijoj unutrašnjosti su pećurkasti izraštaji, slično kao kod mitohondrija. U njima se nalaze enzimi disanja. Mezozomi, **analogni endoplazmatskom retikulumu**, imaju ulogu u sintezi lipida, ugljenih hidrata i proteina. Mezozomi, **analogni Goldžijevom aparatu**, sastoje se od cistijerne i sistema kanalića koji su povezani sa periplazmatičnim prostorom. Preko ovih mezozoma se vrši izdvajanje egzotoksina iz ćelije.

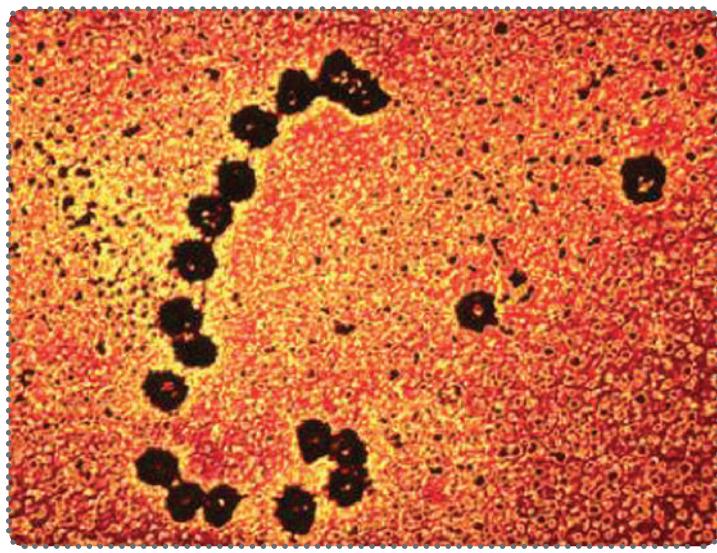
Ribozomi

To su mala okruglasta tjelašca, vidljiva samo elektronskim mikroskopom (slika 83). Po gradi i funkciji su veoma kompleksni. Sastoje se od **proteina i ribonukleinske kiseline** (RNK). Zbog toga što sadrže veliku količinu ribonukleinskih kiselina, nazvane su ribozomi. Brzina taloženja – sedimentacije pri centrifugiranju ribozoma ili drugih organela i molekula se izražava koeficijentom sedimentacije. Prema koeficijentu sedimentacije izraženom u jedinicama Svedberga (Svedbergova jedinica – Svedbergova konstanta – S), ribozomi prokariota i eukariota su međusobno različiti. Brzina sedimentacije prokariotskih ribozoma je 70 S. Sastoje se od dvije podjedinice – subjedinice, male subjedinice 30 S i velike subjedinice 50 S, na koje se mogu razdvajati pri smanjenju koncentracije jona magnezijuma. Može se uočiti da zbir koeficijenata sedimentacije obje subjedinice ne daje polaznu veličinu – 70 S. Razlog je taj, što brzina taloženja ne zavisi samo od mase subjedinica, **nego i od njihovog oblika**. Ribozomalna RNK je prisutna u obje subjedinice, brzina njene sedimentacije je 23 S i 16 S. Razlikujemo dvije populacije ribozoma: **poliribozomi** – ribozomi koji su vezani za membrane hrapavog endoplazminog retikuluma (dobio je naziv hrapav jer se na njemu nalaze ribozomi) ili za jedrovu membranu (slika 83) i **slobodni ribozomi**, koji se nalaze pojedinačno ili u grupama slobodni u citoplazmi. U ribozomima se odvija proces sinteze proteina. Slobodni ribozomi sintetišu proteine koji ostaju u ćeliji i izgradju membranske organele, dok poliribozomi (polizomi) sintetišu uglavnom sekretorne proteine, koje ćelija izbacuje egzocitozom u ekstracelularni prostor.

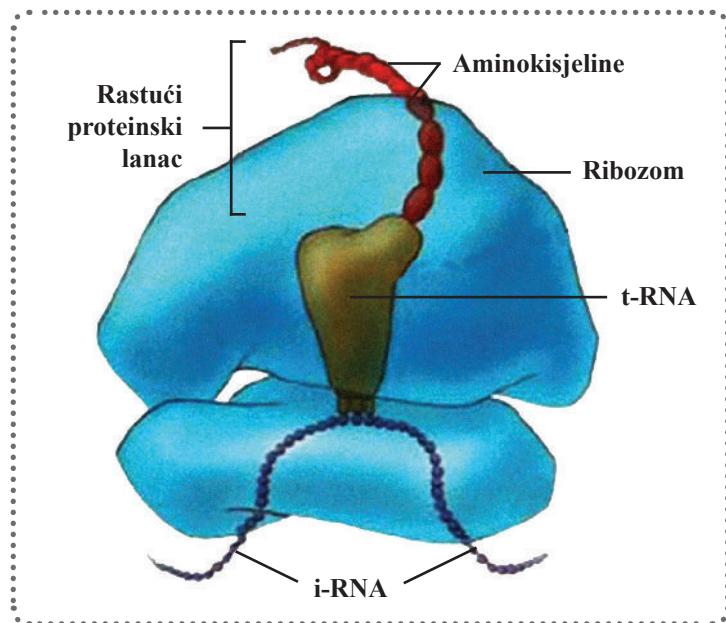
Proces sinteze proteina u ribozomima

Informacije o redoslijedu vezivanja i broju aminokiselina u nekom proteinu se nalaze na dezoksiribonukleinskoj kiselini (DNK), odakle se prepisuju – prenose na informacionu ribonukleinsku kiselini (iRNK); informaciona RNK zatim odlazi iz jedrove regije do ribozoma koji se nalaze takođe u citoplazmi, pri čemu se stvaraju poliribozomi – polizomi.

Krećući se – klizeći duž informacione RNK (koja je u obliku niti) ribozom na njoj „čita“ zapisane informacije o redoslijedu vezivanja aminokiselina i prenosi te informacije na transportnu – transfer RNK (tRNK). Na osnovu dobijenih informacija transportna RNK u ribozom donosi odgovarajuće aminokiseline, koje se zatim povezuju peptidnim vezama u polipeptidni lanac. Transportna RNK je specifična za svaku aminokiselinu. Kako se ribozomi pomjeraju, raste proteinski lanac i to se odvija velikom brzinom (slika 84). Transport i povezivanje aminokiselina odvija se kroz četiri faze: 1. Aktivacija aminokiseline, odnosno njeno vezivanje za transportnu RNK; 2. Inicijacija – formiranje inicijalnog – početnog kompleksa aminokiselina; 3. Elongacija, koja podrazumijeva polimerizaciju aminokiselina koje donosi tRNK; 4. Terminacija – završna faza sinteze polipeptidnog lanca.



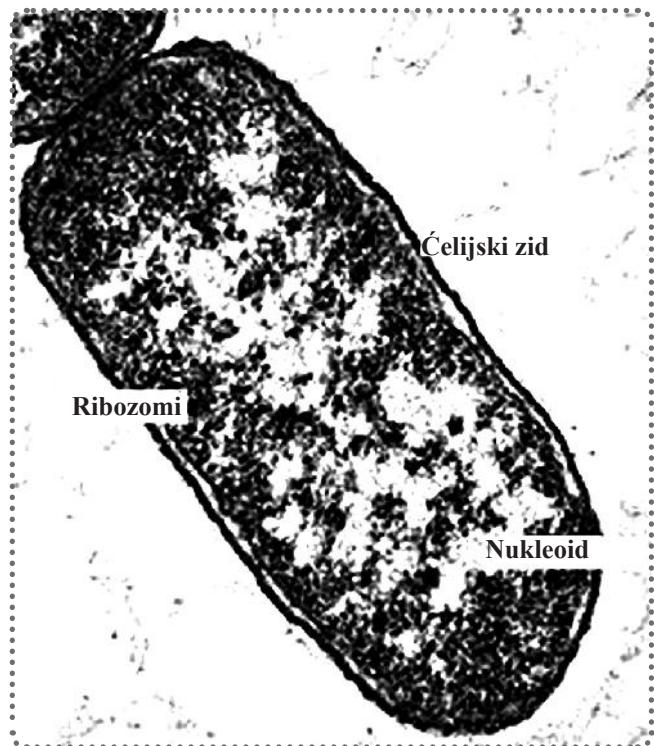
SLIKA 83 – Poliribozomi eukariotske ćelije
(<http://www.biologija.rs/ribozomi.html>)



SLIKA 84 – Šema ribozoma tokom translacije

Primitivno jedro – nukleoid

Prokarioti imaju primitivan jedrov aparat koji se zove **nukleoid** (*nucleoid*) (slika 85). Između jedra i citoplazme ne postoji jedarna membrana, pa se ova tjelašća (obično ih ima dva ili više) nazivaju i **jedrova regija**. Jedrova regija se obično nalazi u centralnom dijelu bakterijskog tijela, ali je povezana sa citoplazmatičnom membranom, mezozomima i polizomima. DNK jedrove regije je u obliku prstena. U različitim stadijumima razvoja bakterijske ćelije, DNK u jedrovoj regiji može da se pojavi u različitom obliku: končastom, u vidu fine mrežice ili krupnijih gomilica. DNK ne stvara strukture slične hromozomima kao kod eukariota.

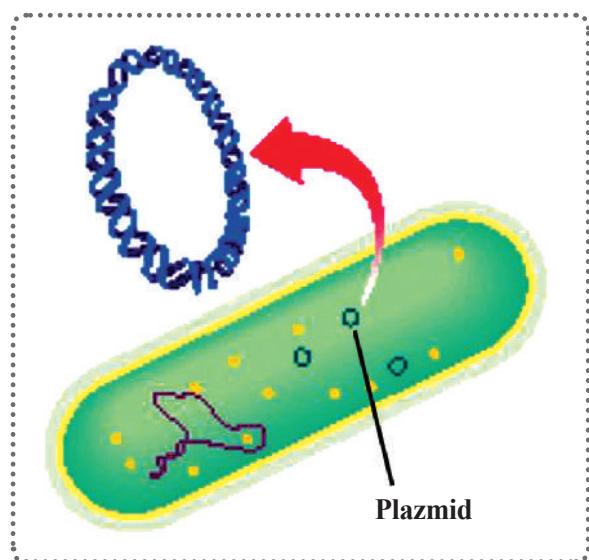


**SLIKA 85 – Unutrašnja struktura prokariotske ćelije
(*E. coli*, TEM)**

(<http://www.ucmp.berkeley.edu/bacteria/bacteriamm.html>)

Plazmidi

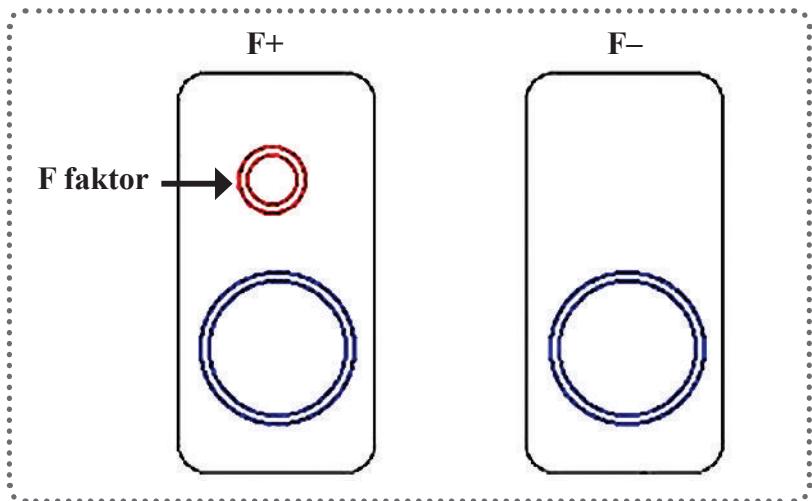
Plazmidi su mali DNK molekuli **u obliku prstena** (kruga), koji se nalaze u citoplazmi mnogih bakterija, nekih kvasaca i pljesnici (slika 86). Plazmidi se umnožavaju nezavisno od replikacije hromozoma. Sadrže nekoliko gena, obično manje od 30. Plazmidi se mogu izgubiti tokom diobe ćelije ukoliko dođe do inhibicije njihove replikacije. Do inhibicije replikacije plazmida može doći na spontan ili indukovani način. Kao inhibitori replikacije plazmida koriste se akridinski mutageni, UV i ionizujuće zračenje, temperature veće od optimalnih za rast mikroorganizma. Inhibirani plazmidi se lako ispiraju – odstranjuju iz žive bakterijske ćelije.



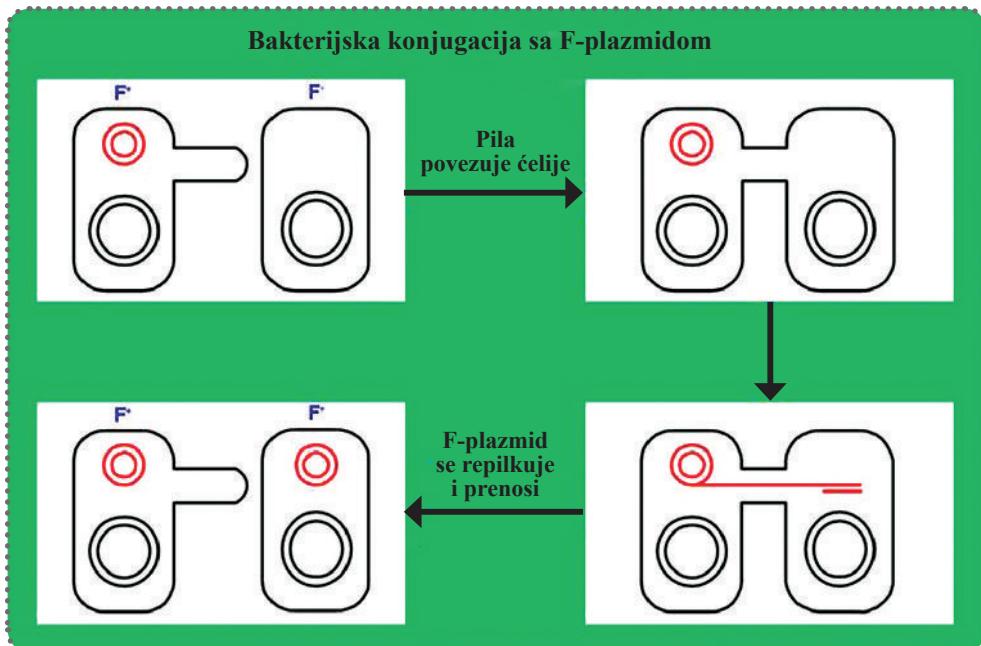
SLIKA 86 – Oblak i položaj plazmida
u bakterijskoj ćeliji

Prema funkciji za koju su odgovorni, postoji više vrsta plazmida. **Konjugativni plazmidi** sadrže faktor fertiliteta (F faktor) (slike 87 i 88). **Col plazmidi** sadrže gene za sintezu bakteriocina – kolicina, koji uništava druge bakterije. **Virulentni plazmidi** su odgovorni za patogenost ćelije. Bakterije koje posjeduju ove plazmide proizvode toksine.

Plazmidi koji sadrže R faktor odgovorni su za rezistentnost bakterija prema antibioticima. **Metabolički plazmidi** posjeduju gene za sintezu enzima koji učestvuju u razgradnji različitih jedinjenja. U metaboličke plazmide spadaju plazmidi koji posjeduju gene za nodulaciju (nod) i azotofiksaciju (Fix) geni.



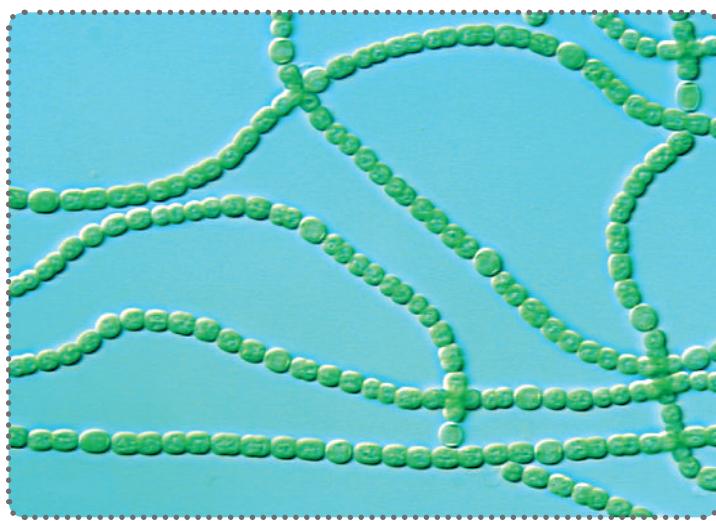
SLIKA 87 – Šematski prikaz bakterije sa i bez konjugativnog plazmida



SLIKA 88 – Konjugacija

Hromatofore

Kod prokariotskih mikroorganizama fotosintetski aparat se nalazi u hromatoforima koje su direktno vezane za citoplazminu membranu (slika 89). Hromatofore su strukture koje sadrže fotosintetske pigmente.



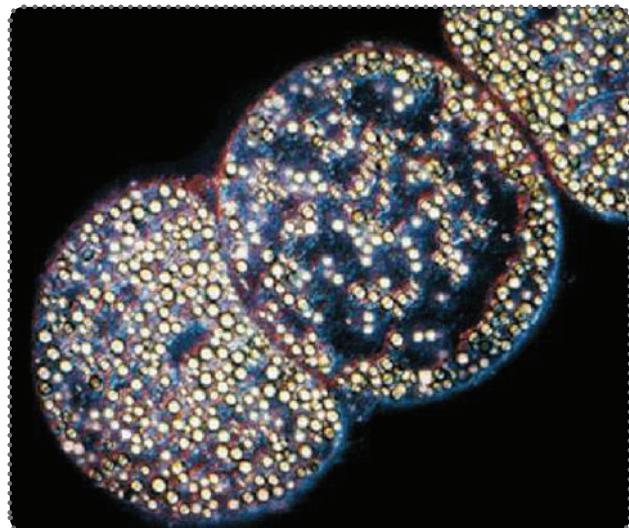
**SLIKA 89 – *Cyanobacteria*, fotosintetičke bakterije,
raspoređene u lancu**

(<http://sercblog.si.edu/?p=2047>)

Citoplazmatske inkluzije (uključci)

Ova tjelašca predstavljaju **rezerve** različitih organskih i neorganskih materija. Njihov broj varira u zavisnosti od načina ishrane i starosti ćelije. Kod bakterija su nadeđna glikogenska, skrobna, lipoproteinska, metahromatinska, sumporna zrnca (slika 90) i dr.

Metahromatinska zrnca su rezerva polifosfata i nukleotida. Magnetozomi su inkluzije koje sadrže gvožđe u obliku magnetita i služe mikroorganizmima za orientaciju u odnosu na magnetsko polje zemlje. Na taj način se bakterije koje žive u vodama održavaju na optimalnoj dubini. U bakterijskoj ćeliji se nakupljaju i druge materije koje su joj potrebne: enzimi, nukleinske kiseline, aminokiseline, monosaharidi, disaharidi, masne kiseline i dr.



**SLIKA 90 – Sumporne granule
(*Thiomargarita namibiensis*, SEM)**

(<http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Thiomargarita>)

Vakuole

Vakuole su tjelašca koja imaju lipoproteinsku opnu i nalaze se kod nekih bakterija u starijoj fazi razvoja. Gasne vakuole su ispunjene gasom. Zahvaljujući gasnim vakuolama, cijanobakterije lebde u vodi (slika 91).



**SLIKA 91 – Cijanobakterija *Microcystis*
spp. sa heksagonalnim i cilindričnim
gasnim vakuolama
(SEM 31.500x)**

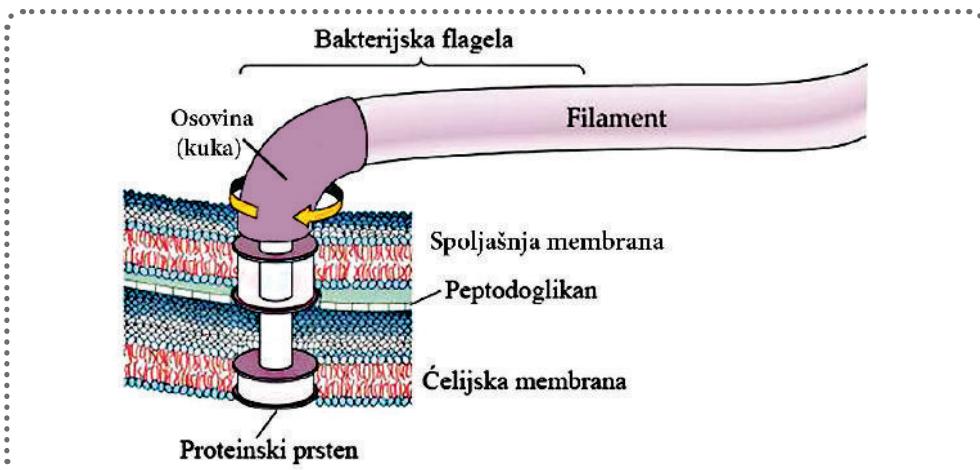
(<http://www.amyhremleyfoundation.org/images/conservation/GasVesicles-07M.gif>)

Organele za kretanje

Flagele – bičevi

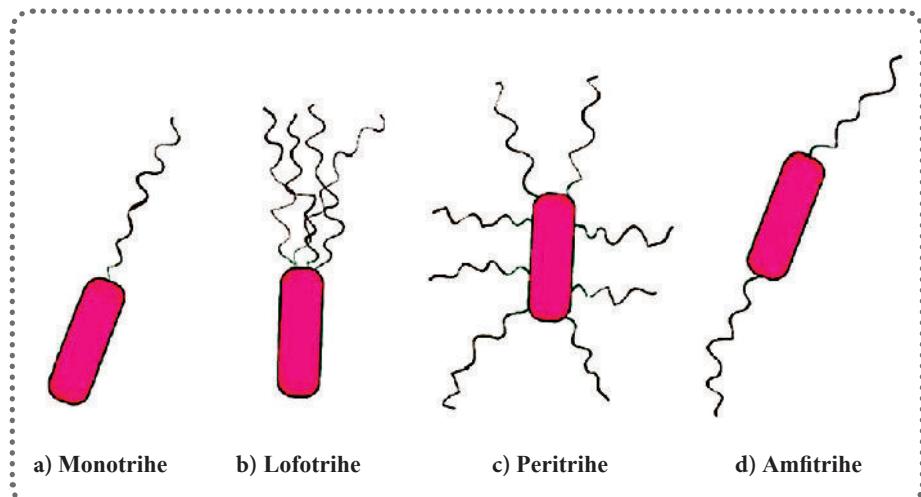
Bakterije se kreću pomoću **končastih organeli** koje se zovu flagele (bičevi) (slika 92). Flagele su spiralno savijene, što utiče na kretanje, jer svojom rotacijom pokreće bakterije poput propeleru. Spiralne bakterije se kreću pomoću organele koja se zove aksijalna nit. Dužina flagele može biti 1–2 puta veća od dužine ćelije. Za ćeliju su pričvršćene preko bazalnog zrna – tjelašca (blefaroplast, kinetozom). Flagele pomoću kojih se kreću prokarioti su tanje nego kod eukariota. Prečnik im je oko 20 nm, a dužina oko 15–20 µm.

Bič se sastoji iz **filamenta, osovine i bazalnog tjelašca**. Filament je građen od proteina flagelina. Osovina povezuje filament sa bazalnim tjelašcem i izgrađena je iz proteina koji se razlikuju od flagelina. Bazalno tjelašce je složene grade i razlikuje se kod gram pozitivnih i gram negativnih bakterija. Kod gram negativnih bakterija se sastoji od četiri paralelna prstena, dok kod gram pozitivnih samo od dva prstena. Zahvaljujući ovim prstenovima, flagele se okreću, **rotiraju**.

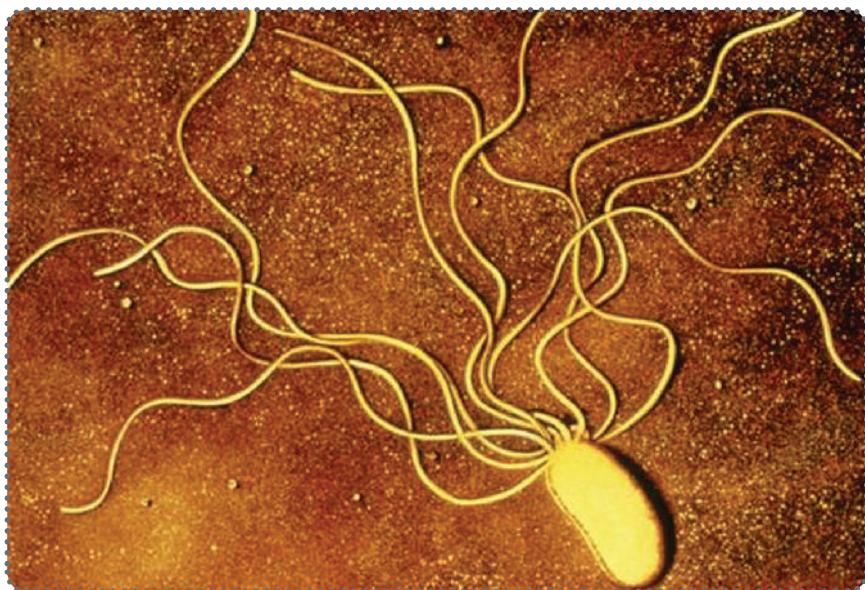


SLIKA 92 – Prikaz grada bakterijske flagele (bazalno tijelo, osovina i filament)

Broj i raspored flagela je karakterističan za vrstu bakterija. Bakterije koje imaju jednu flagelu zovu se **monotrihe**, snop flagela na jednom kraju ćelije – **lofotrihe**, flagele na oba kraja – **amfotrihe** i one koje imaju flagele po čitavoj površini ćelije zovu se **peritrihe** (slike 93 i 94).



SLIKA 93 – Šematski prikaz mogućeg rasporeda flagela kod bakterija
(<http://microbeonline.com/bacterial-flagella-structure-importance-and-examples-of-flagellated-bacteria>)



SLIKA 94 – Flagele *Salmonella enterica* (SEM)
(<https://www.sciencesource.com/archive/-SS2175968.html>)

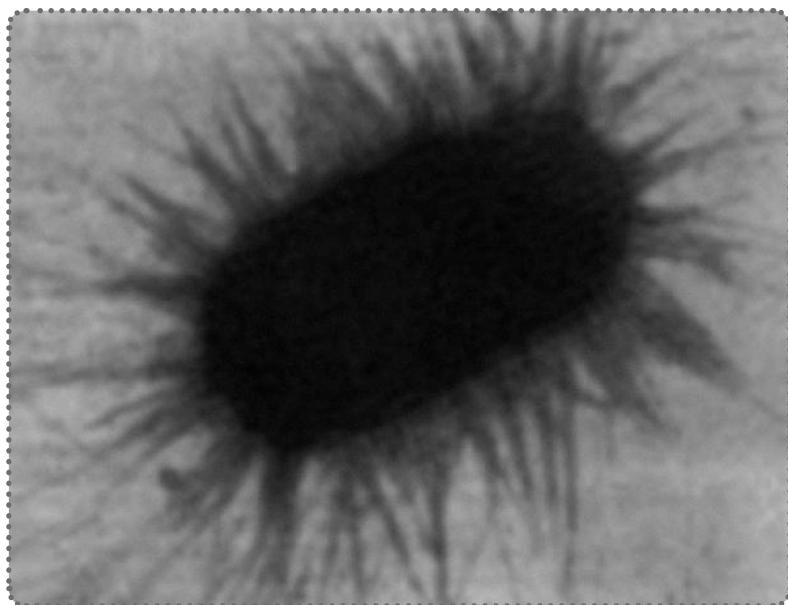
Aksijalna nit

Aksijalna nit je lokomotorna organela koja se nalazi kod spiralnih bakterija – spiroheta i smještena je između citoplazmine membrane i ćelijskog zida u vidu prave niti. Oko aksijalne niti, koja je izgrađena iz snopa vlakana, uvijena je bakterijska ćelija. Broj aksijalnih niti kreće se od 2 do 10, što zavisi od vrste bakterije. Po hemijskom sastavu, aksijalna nit je građena od flagelina.

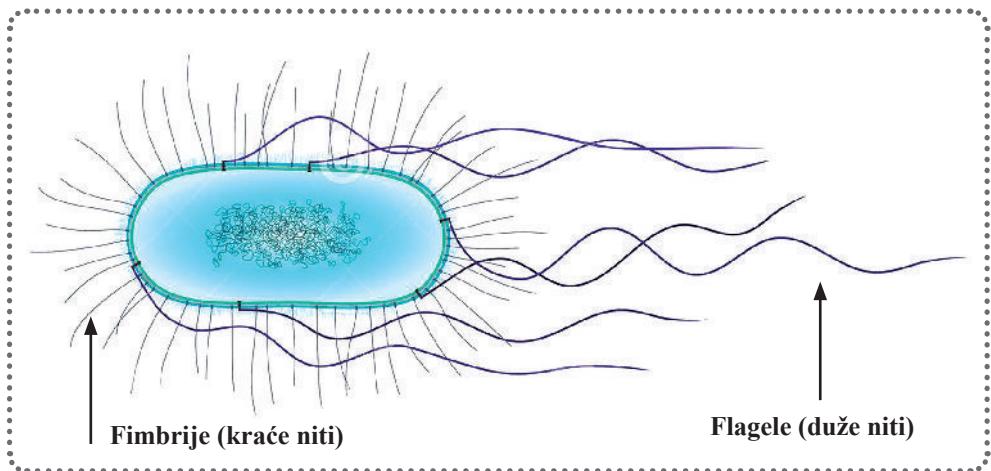
BAKTERIJSKE STRUKTURE ZA ADHEZIJU – PRIČVRŠĆIVANJE

Fimbrije

Fimbrije su brojne **tanke, kratke niti**, koje se nalaze na površini mnogih bakterija (slike 95 i 96). Omogućuju bakterijama **da se vežu** za supstrat ili da se međusobno povezuju, čineći tako navlaku na površini tečnosti. Neke fimbrije su nešto većeg prečnika, pa liče na cjevčice. Smatra se da je uloga ovih fimbrija u transportu vode i rastvorenih soli između ćelije i okolne sredine. Širina fimbrija je 5–10 nm, a dužina 0,3–4 µm. Po hemijskom sastavu ovi izraštaji su proteinske prirode. Broj fimbrija je različit u zavisnosti od vrste mikroorganizama, a može biti od 100 do nekoliko hiljada.



SLIKA 95 – Fimbrije *E. coli* (SEM)
(<http://rehydrate.org/dd/dd07.htm>)



SLIKA 96 – Odnos veličine fimbrija i flagela (*E.coli*, ilustracija)

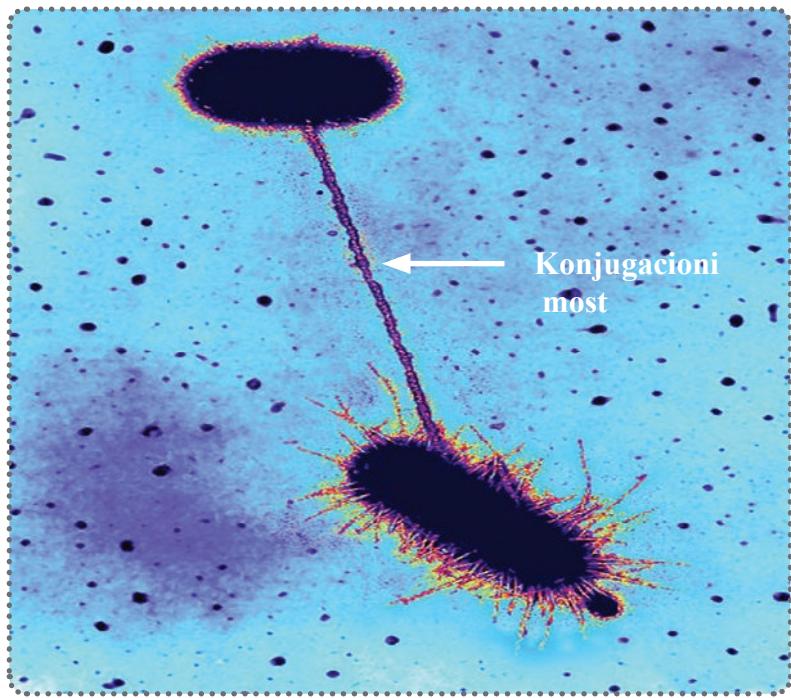
(<https://www.dreamstime.com/stock-illustration-e-coli-cell-gram-negative-bacterial-ribosomes-image47159911>)

BAKTERIJSKE STRUKTURE ZA RAZMJENU GENETIČKOG MATERIJALA IZMEĐU BAKTERIJSKIH ĆELIJA

Pile

Pile (polne fimbrije, kopulacione, „seks“ pile, F pile) su jednostavnji **končasti izraštaji** na površini bakterijskih ćelija, prečnika oko 10 nm. Obično se na površini bakterijske ćelije nalazi svega 1–4, u rijedim slučajevima do 10 pila. Po strukturi su slične fimbrijama, ali su duže. Mogu da dostignu dužinu i do 20 μm . Osnovna uloga pila je u **procesu konjugacije bakterija**, pa se zbog toga označavaju i kao seks pile.

U toku konjugacije **grade mostiće** između dvije bakterijske ćelije – donora i recipijenta. Pri tome genetski materijal (DNK) kroz pile prelazi iz jedne ćelije u drugu (slika 97). Funkcionisanje pila u procesu konjugacije je genetski uslovljeno konjugacionim plazmidima koji sadrže faktor fertiliteta (F faktor).



SLIKA 97 – Polna pila preko koje se stvara konjugacioni most između dvije ćelije (SEM)
(<http://cosmology.com/Cosmology2.html>)

OBLICI ZA PREŽIVLJAVANJE BAKTERIJA U NEPOVOLJNIM USLOVIMA

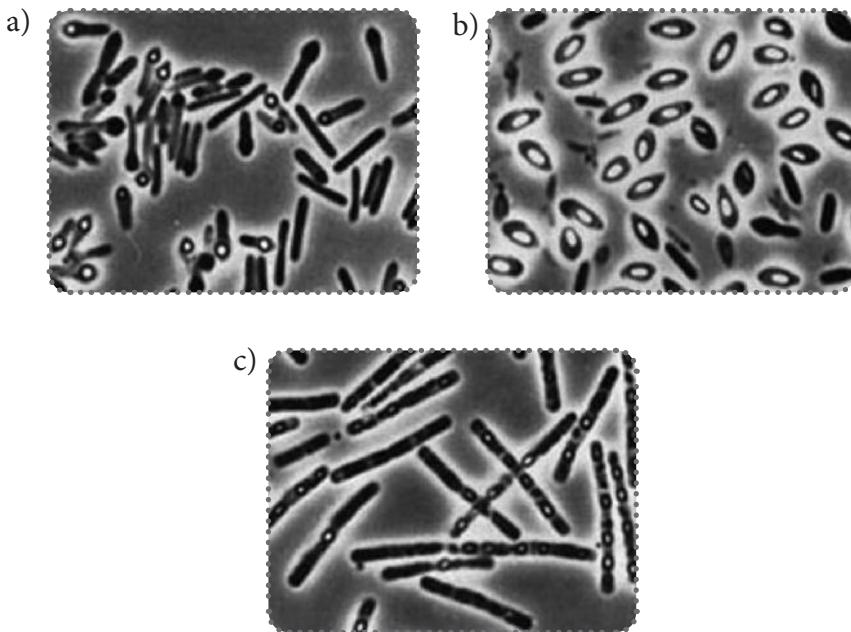
U nepovoljnim uslovima bakterije obrazuju specijalne zaštitne tvorevine koje im omogućuju preživljavanje – **spore i ciste**. U ovom obliku bakterije su u latentnom stanju (**stanje anabioze**), u kome mogu ostati duži vremenski period. To je stanje „uspavaništvo“ ćelije, u kome su svi metabolički procesi u ćeliji usporeni, a aktivnosti, kao što su ishrana i kretanje, zaustavljeni. Kad nastupe povoljni uslovi, ćelija iz oblika za konzervaciju prelazi u vegetativni oblik i normalno nastavlja životne funkcije.

U zavisnosti od vrste mikroorganizama, razlikuju se i oblici za konzervaciju, odnosno preživljavanje.

Bakterijske spore (endospore)

Spore su oblici za preživljavanje – konzervaciju bakterija u nepovoljnim uslovima spoljašnje sredine. One nisu metabolički aktivne tvorevine, niti učestvuju u razmnožavanju bakterija. Nakon ponovnog uspostavljanja povoljnih uslova, bakterijska ćelija se vraća u predašnji, vegetativni oblik. Spore predstavljaju **sitna, okrugla ili ovalna tjelašca**, koja se stvaraju u ćelijama samo nekih vrsta bakterija, a to su: štapićaste bakterije iz roda ***Bacillus*** i ***Clostridium*** i okrugle bakterije iz roda ***Sporosarcina***. Pošto se obrazuju u ćeliji, zovu se i endospore. U jednoj ćeliji se obično formira jedna spora, dok se kod nekih vrsta iz roda *Clostridium* formira više spora u ćeliji.

Oblik i položaj spora je karakterističan za vrstu i koristi se u determinaciji bakterija (slika 98). Kod bakterija roda *Clostridium* terminalne spore proširuju ćeliju na kraju, pa ona dobija oblik čiode (slika 98a), a centralne spore šire ćeliju u sredini, tako da ona dobija izgled vretena (slika 98b). U ćelijama bakterija iz roda *Bacillus* spore zauzimaju centralni, rjeđe subterminalni položaj i ne mijenjaju prečnik ćelije (slika 98c).



SLIKA 98 – Različiti tipovi spora, fazna mikroskopija: a. terminalno postavljena spora – tipa ***plectridium***, b) centralno postavljena spora – tipa ***clostridium***, c) centralno postavljena spora – tipa ***bactridium***

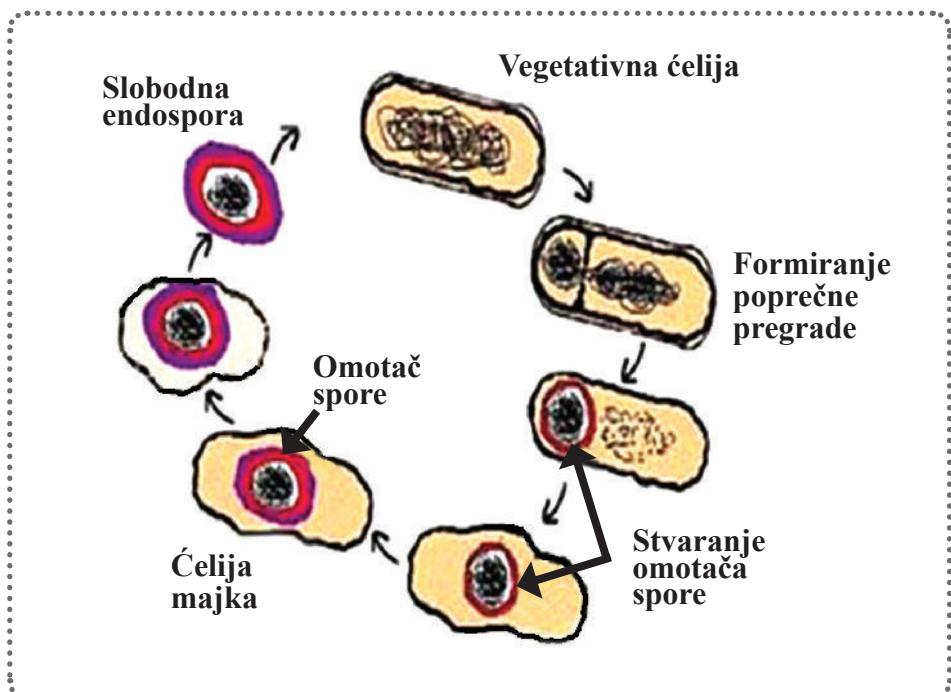
(http://www.textbookofbacteriology.net/structure_10.html)

Spore sadrže veoma malo vode, DNK, RNK, termorezistentne enzime i visok sadržaj dipikolinske kiseline. Dipikolinska kiselina čini 5–15% suve mase spore i s jonima kalcijuma, mangana, kalijuma i gvožđa gradi kompleksna jedinjenja, koja obezbeđuju veću otpornost prema topotili. Spore izdržavaju temperature i do 100°C u toku 10 minuta, pa se za njihovo uništavanje moraju koristiti temperature iznad 120°C , u trajanju od najmanje 20 minuta. U suvoj sredini spore su otpornije prema visokim temperaturama.

Otporne su i na niske temperature, mogu da prežive temperaturu od -253°C . U zemljištu mogu da prežive i više desetina godina. Zato sporogeni mikroorganizmi predstavljaju poseban problem u medicini i prehrambenoj industriji.

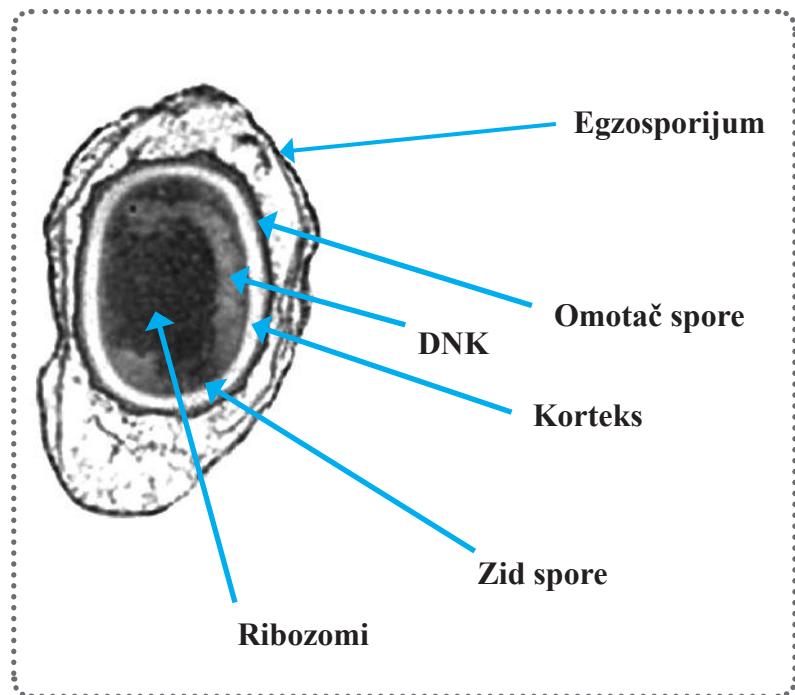
Proces sporogeneze (sporulacije) bakterijskih spora

Proces sporulacije, odnosno nastanka spore je složen i traje oko 24 časa. Započinje invaginacijom (uvlačenjem) citoplazmine membrane s obje strane ćelije, što dovodi do odvajanja jednog dijela protoplasta – sa dijelom DNK (slika 99).



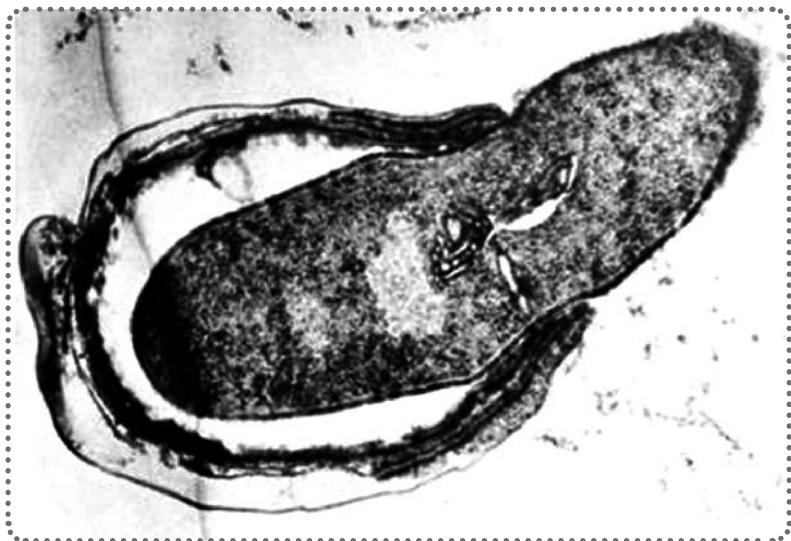
SLIKA 99 – Proces bakterijske sporulacije

Nakon toga se formira poprečna pregrada, koja odvaja buduću sporu od ostatka protoplasta. Ovako formirana tvorevina – buduća spora, obavija se ostatkom citoplazmine membrane majke ćelije, tako da je obavijena sa dvije membrane. Unutrašnja membrana zatim počinje sintezu materija koje obrazuju zid spore, a koji je po hemijskom sastavu sličan ćelijskom zidu. Prostor između formiranog zida spore i unutrašnje membrane se popunjava polimerima glikoproteinske prirode. Taj sloj se naziva **korteks** ili kora i zauzima više od polovine zapremine spore. Iznad korteksa se formira **omotač spore**, koji je građen od nekoliko proteinskih slojeva i koji je nepropustljiv za većinu hemikalija. Zahvaljujući ovom omotaču, spore su vrlo otporne na dejstvo hemikalija. Neke spore imaju još jedan zaštitni omotač, koji se zove **egzosporijum** (*exosporium*) (slika 100).



SLIKA 100 – Bakterijska endospora, elektronska mikrografija

Kada spora dospije u povoljne uslove, započinje usvajanje vode i hranljivih materija, aktiviraju se enzimi, dolazi do bubrežnja i na kraju do pucanja zidova spore, pri čemu se formira nova vegetativna ćelija. Taj prelazak spore u vegetativni oblik naziva se **klijanje** (germinacija) spore (slika 101).

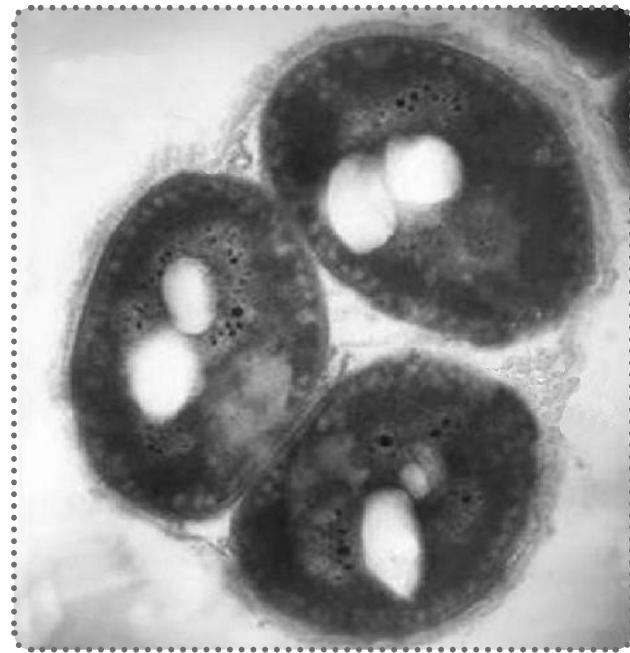


SLIKA 101 – Kljanje spore *Clostridium pectinovorum* (SEM)
(<https://jb.asm.org/content/jb/96/5/1835.full.pdf>)

U toku kljanja spore razlikuje se nekoliko stadijuma: **aktivacija, kljanje i izrastanje vegetativne ćelije**. Spore nekih mikroorganizama isključuju čim se nađu u povoljnim uslovima, dok kod drugih to stanje „uspavanosti“ traje dok se spora ne aktivira. Faktori aktiviranja mogu da budu: toplota, nizak pH i dr. U laboratorijskim uslovima, kljanje spora se postiže zagrijavanjem sredine u kojoj se spore nalaze na temperaturi od 65°C, 15–60 minuta (ili na 75°C, 10 minuta). Aktiviranjem se narušava omotač spore. Vegetativne ćelije u kojima se formirala spora (sporangije) mogu da imaju različite oblike zavisno od odnosa spore i ostatka bakterijskog tijela. Ako je spora postavljena centralno u bakterijskom tijelu i ako je istog prečnika, tako da ne mijenja oblik bakterijskog tijela, taj se oblik naziva **bactridium** tip (npr. kod *Bacillus anthracis*). Ako je postavljena centralno ili bliže jednom kraju, a prečnik joj je veći od prečnika bakterijskog tijela, dobija izgled vretena – **clostridium** tip spora (npr. kod *Clostridium botulinum*). Ako se nalazi sasvim na kraju bakterijskog tijela i većeg je prečnika, dobija se slika maljice za doboš – **plectridium** tip spora (npr. kod *Clostridium tetani*).

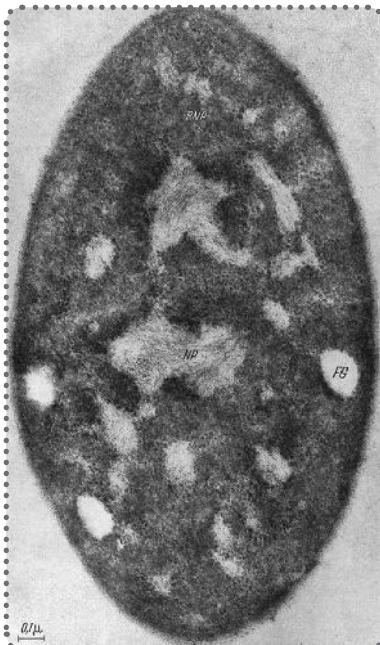
Ciste

Ciste su oblici za preživljavanje bakterijskih vrsta iz roda *Azotobacter* (slike 102 i 103). Način formiranja ciste je drugačiji od načina nastanka endospora. Cista se formira tako što citoplazma počinje da se skuplja, a ćelijski zid zadebljava. Ciste *Azotobacter spp.* su dosta otporne na dejstvo isušivanja i nekih štetnih hemijskih sredstava, ali su neotporne na dejstvo visokih temperatura. Prema tome, ciste su **manje otporne** na dejstvo nepovoljnih faktora spoljašnje sredine od endospora.



SLIKA 102 – Ciste *Azotobacter nigricans* (TEM)

(https://www.researchgate.net/publication/225110492_Encystment_of_Azotobacter_nigricans_grown_diazotrophically_on_kerosene_as_sole_carbon_source/figures?lo=1&utm_source=google&utm_medium=organic)

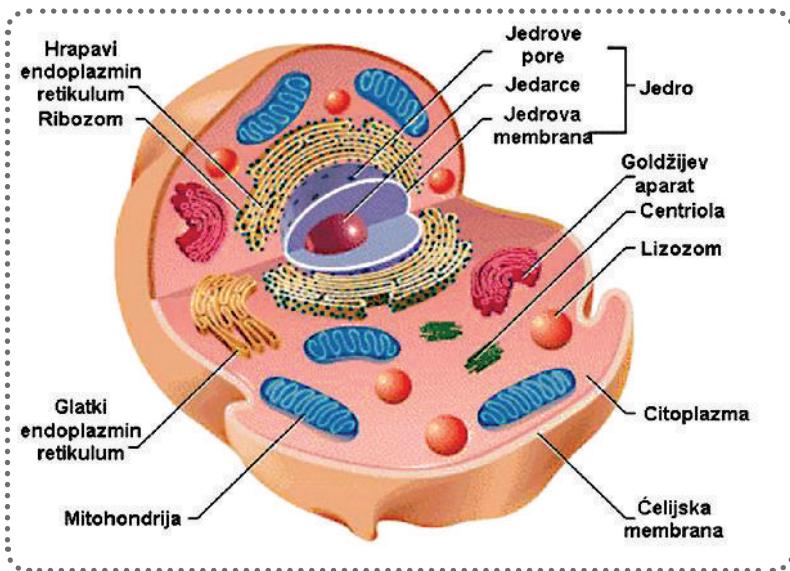


SLIKA 103 – *Azotobacter chroococcum* (TEM)

(<https://www.semanticscholar.org/paper/The-ultrastructure-of-vegetative-cells-and-cysts-of-Tchan-Birch-Andersen/5f59b-7d4365a38ed259626462bf820f589684c24>)

GRAĐA EUKARIOTSKIH MIKROORGANIZAMA

Osnovni elementi grade ćelije eukariotskih mikroorganizama (algi, gljiva i protozoa) su: ćelijski zid, ćelijska (citoplazmatska) membrana, jedro, unutarćelijske organele i organele za kretanje. Mogu da stvaraju posebne tvorevine za razmnožavanje i preživljavanje u nepovoljnim uslovima, spore i ciste. Unutarćelijske organele su: endoplazmatični retikulum, ribozomi, Goldžijev aparat, mitohondrije, plastidi, vakuole, lizozomi (slika 104). Mikroorganizmi koji se kreću (neke alge i protozoe) imaju organele za kretanje (pseudopodije, flagele ili cilije).

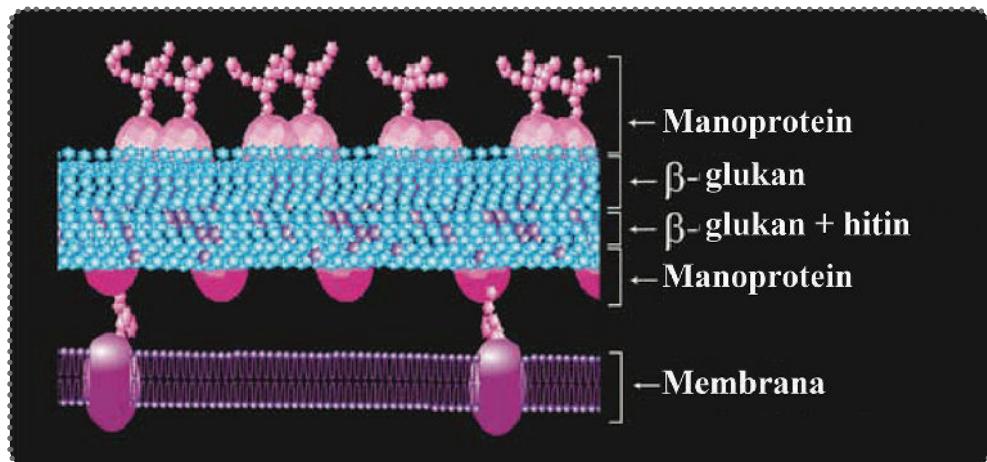


SLIKA 104 – Šematski prikaz građe ćelije eukariota

Ćelijski zid eukariotskih mikroorganizama

Kod većine eukariota ćelijski zid se sastoji od matriksa u koji su uronjeni mikrofibrili (mikro konci). Matriks ćelijskog zida algi izgrađen je od različitih **polisaharida**. Mikrofibrili kod nekih algi su građeni od celuloze, a kod nekih od manana, ksilana i pektina. Jednoćelijske zelene alge *Protophyta* umjesto ćelijskog zida imaju **pelikulu**. To je sloj koji predstavlja zadebljanje citoplazmine membrane. Pelikula je elastična, pa mikroorganizmi sa pelikulom nemaju stalan oblik ćelije. Pelikula kod roda *Euglena* se sastoji iz nekoliko izbrazdanih membrana. Ćelijski zid končastih gljiva je čvrst, a hemijski sastav se razlikuje u zavisnosti od vrste gljive. Matriks je najčešće građen od **glukana i galaktana**, a mikrofibrilni konci od N-acetil glukozamina i celuloze. Ćelijski zid kvasaca građen je od **glukana, manana**, a u manjem procentu od proteina,

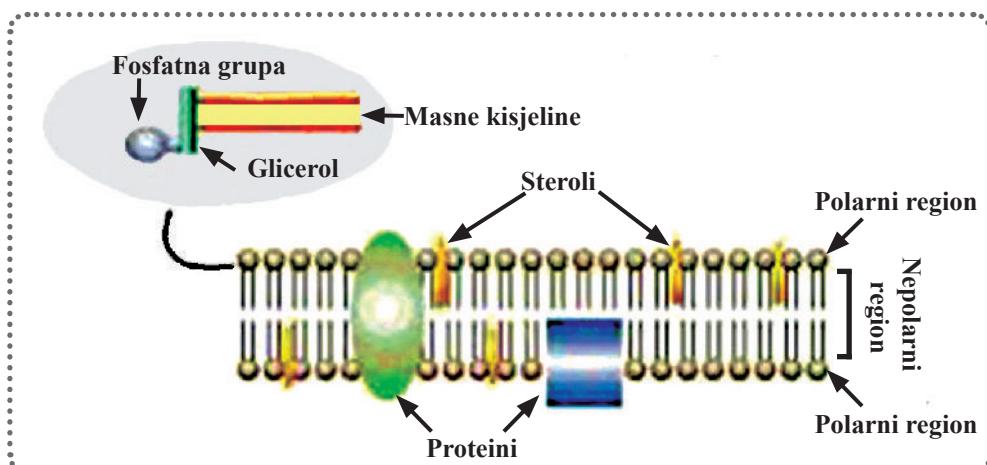
lipida i glukozamina (slika 105). Protozoe nemaju čvrst ćelijski zid, pa im se oblik djelimično mijenja. U sastav ćelijskog zida protozoa ulazi pseudohitin, a kod nekih još CaCO_3 i SiO_2 . Mnoge protozoe umjesto ćelijskog zida imaju pelikulu.



SLIKA 105 – Građa ćelijskog zida kvasca

Citoplazmatska membrana

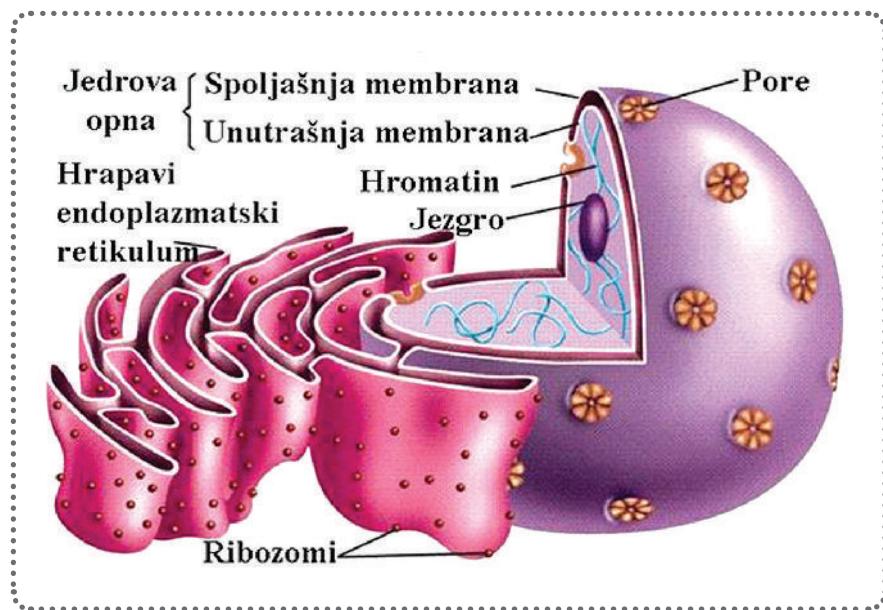
Citoplazmatska membrana kod eukariota takođe se sastoji od lipida i proteina i ima funkciju osmotske barijere – reguliše razmjenu materija ćelije sa spoljašnjom sredinom. Lipidni dvosloj citoplazmatske membrane eukariota, pored fosfolipida, sadrži steroide, kao što je npr. holesterol (slika 106).



SLIKA 106 – Građa citoplazmatske membrane kvasca

Jedro – nukleus

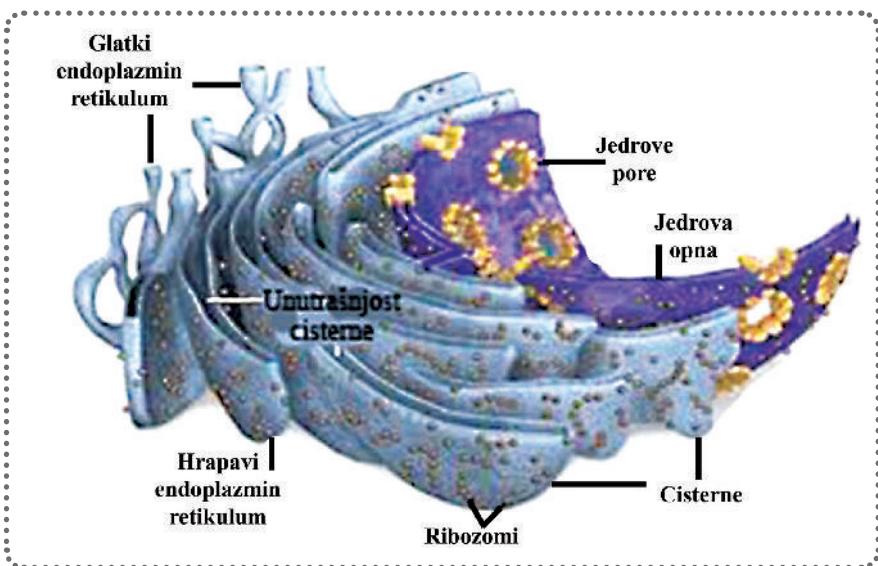
Jedro (*nucleus*) je **okruglasto tjelašce** prečnika oko 5–7 μm . Unutrašnjost jedra je ispunjena nukleoplazmom u kojoj su raspoređene guste niti hromatina. Hromatin čine molekuli DNK i proteini tipa histona. U periodu kad jedro miruje hromatin je rasut po cijeloj nukleoplazmi, a za vrijeme mitoze se skuplja u hromozome. Jedarni materijal je obavljen **dvoslojnom membranom**. Spoljašnji sloj membrane je povezan sa endoplazmatičnim retikulumom, a preko njega sa ribozomima. Na membrani se nalaze **pore** kroz koje prolaze molekuli, pa je tako jedro povezano sa citoplazmom. Jedro je kontrolni centar ćelije koji upravlja svim njenim funkcijama. Preko DNK koja je saставni dio jedra, prenose se nasljedne osobine. U jedru se nalaze jedno ili dva jedarceta koji predstavljaju centre sinteze ribozomalne RNK i hromozoma. Jedarca nisu obavijena membranom (slika 107). Sinteza ribozoma počinje tako što se najprije u jedarcu sintetiše ribozomalna RNK (rRNK) na osnovu informacija sa DNK (prepisanih na informacionoj RNK, iRNK). Ribozomalna RNK se zatim kombinuje sa ribozomalnim proteinima, koji se sintetišu u citoplazminom matriksu i formiraju ribozomalne subjedinice koje se vide u jedarcu. Ribozomalne subjedinice kroz pore na jedarnoj membrani napuštaju jedro i odlaze u citoplazmu.



SLIKA 107 – Prikaz jedra sa jedarcetom

Endoplazmatični retikulum

Endoplazmatični retikulum predstavlja **mrežu razgranatih cjevčica** koja se nalazi u citoplazmatskom matriksu. Povezan je sa citoplazminom membranom i drugim organelama u ćeliji, čime se povećava unutrašnja aktivna površina ćelije. Kod ćelija koje više proizvode proteine endoplazmina mrežica (retikulum) je prekrivena ribozomima i **hrapavog je izgleda**. Kod ćelija koje više proizvode lipide najveći dio mrežice je **gladak** (slika 108). Preko endoplazmine mrežice sintetisani proteini i lipidi se transportuju kroz ćeliju.



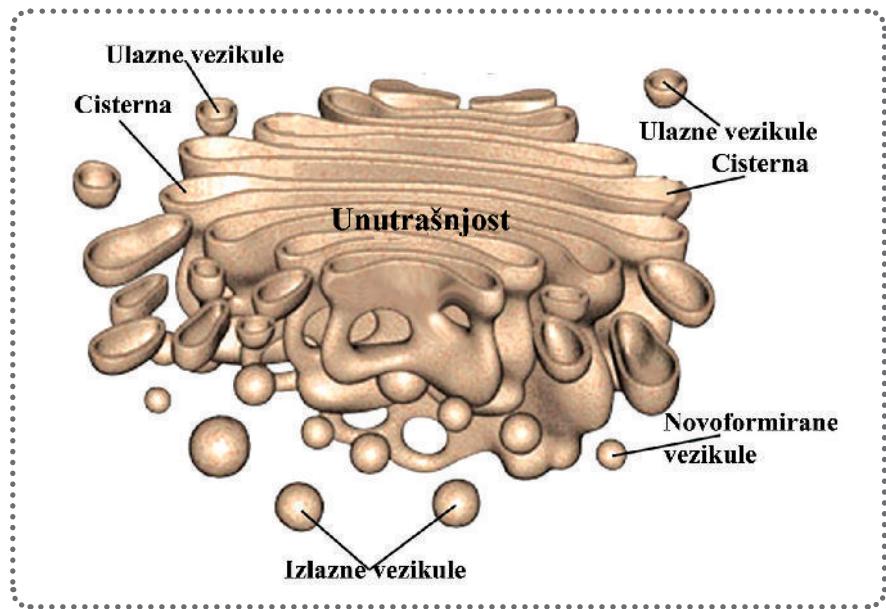
SLIKA 108 – Hrapavi i glatki endoplazmin retikulum

Ribozomi

Ribozomi eukariota su takođe građeni od proteina i RNK. Imaju brzinu sedimentacije 80 S. Sastoje se od dvije podjedinice, čija je brzina sedimentacije 40 S i 60 S. RNK je takođe prisutna u obje podjedinice, a brzina njene sedimentacije je 23 S i 16 S.

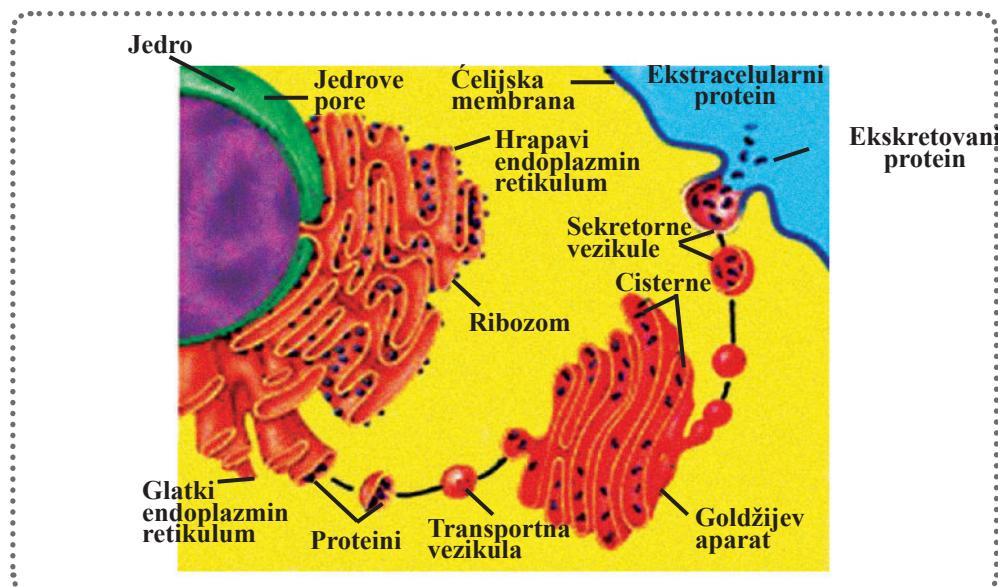
Goldžijev aparat

Goldžijev aparat je krupna organela, koja se sastoji od većeg broja glatkih cjevčica, koje su na krajevima proširene i okružene loptastim mjehurićima (tubule i vezikule). Cjevčice su obično povezane u paketiće (slika 109). Kod nekih gljiva i cilijata Goldžijev aparat je slabije razvijen i sastoji se samo od jedne cjevčice.



SLIKA 109 – Goldžijev aparat

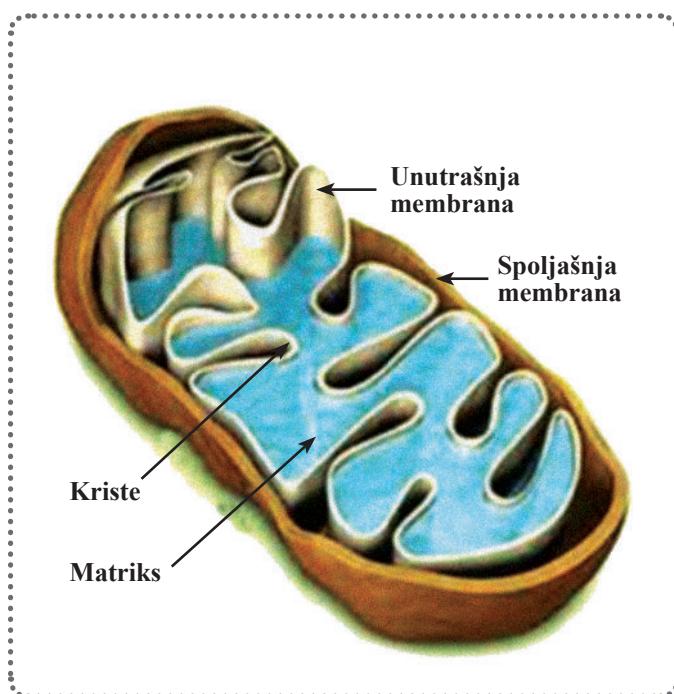
Goldžijev aparat služi ćeliji za nakupljanje materija, njihovu pripremu za sekreciju iz ćelije ili izgradnju citoplazmine membrane (slika 110).



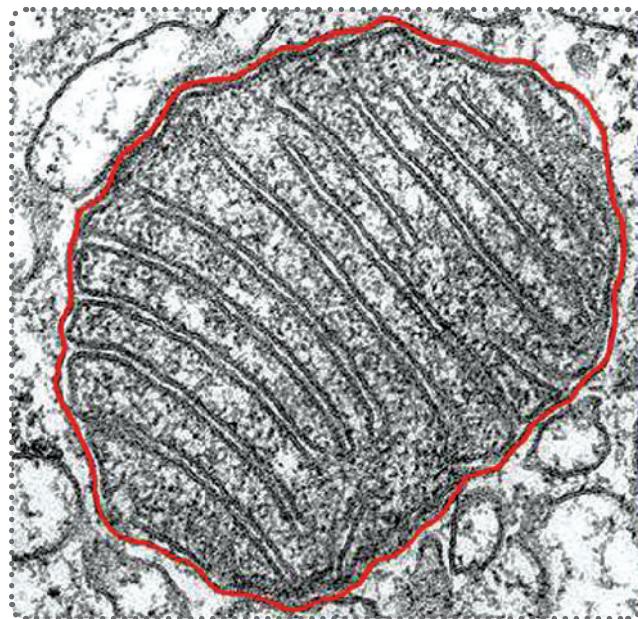
SLIKA 110 – Endoplazmin retikulum i Goldžijev aparat

Mitochondrije

Mitochondrije su organele koje se nalaze u svim eukariotskim ćelijama. Smatra se da su mitochondrije i hloroplasti bili nekada slobodne prokariotske ćelije, koje su progutane od strane eukariotskih ćelija. Imaju **dvije opne** koje su odvojene intermembranskim prostorom. Na unutrašnjoj opni ka unutrašnjosti mitochondrije nalaze se poprečne pregrade – **kriste** koje povećavaju površinu za biohemijsku aktivnost (slike 111 i 112). Oblik krista je različit kod različitih mikroorganizama. Gljive imaju laminarne, dok druge eukariote imaju tubularne kriste. Na površini unutrašnje membrane nalaze se granule koje su za opnu povezane preko tankih kratkih drščica. U njima se u toku procesa respiracije sintetiše adenozin trifosfat (ATP). Unutrašnjost mitochondrija je ispunjena mitochondrijalnim matriksom, koji se sastoji od proteina, lipida i malog broja ribozoma. Spoljašnja i unutrašnja membrana mitochondrija su građene kao i druge lipo-proteinske membrane. Osnovna uloga mitochondrija je u odvijanju procesa **oksidativne fosforilacije**. U matriksu mitochondrija nalaze se svi enzimi Krepsovog ciklusa, a na unutrašnjoj membrani enzimi lanca disanja. Mitochondrije sadrže **sopstvenu DNK**, što im omogućava samoreprodukciiju u toku diobe (slika 113). Imaju veliku autonomiju u ćeliji, tako da svoju funkciju zadržavaju i nakon izdvajanja iz ćelije.

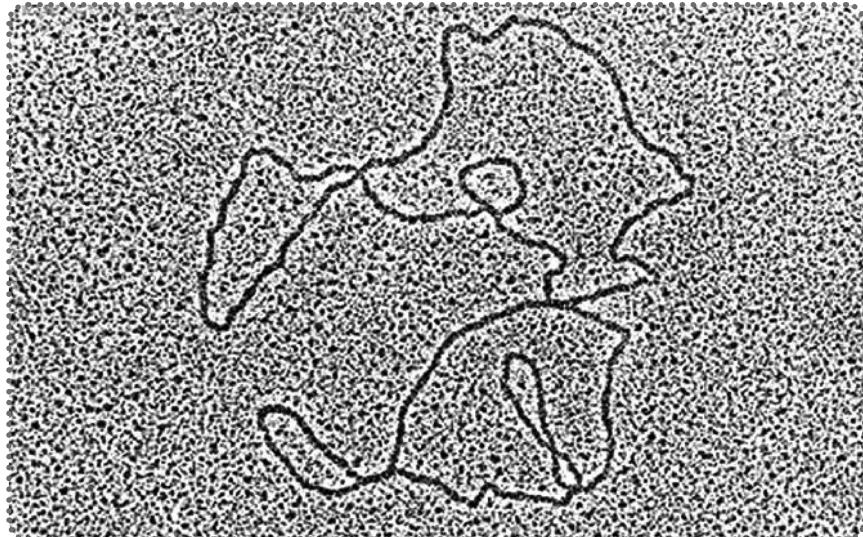


SLIKA 111 – Šematski prikaz grade mitochondrije
(<http://drvo-zivota.blogspot.com/2009/10/mitochondrije.html>)



SLIKA 112 – Mitochondrija (TEM)

(<http://www.trackingzebra.com/new-blog/2015/12/22/mucor-negative-pressure-rooms-and-the-immunosuppressed>)

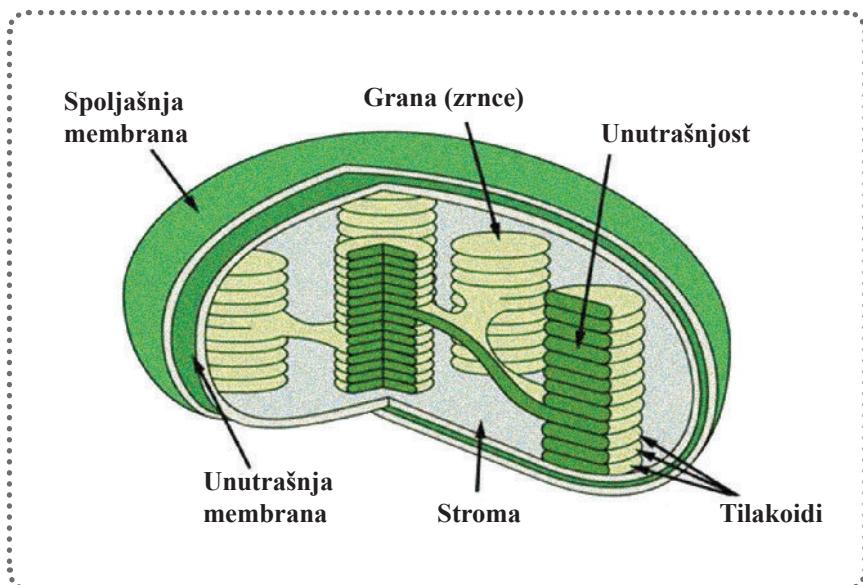


SLIKA 113 – DNK mitohondrija (TEM)

(<https://www.gettyimages.com/detail/photo/transmission-electron-micrograph-of-a-high-res-stock-photography/128622939>)

Plastidi

Plastidi su citoplazmatične organele kod algi i viših biljaka **koje posjeduju pigmente**, kao što su hlorofil i karotenoidi. To su mesta sinteze rezervnih hranljivih materijala. Najpoznatiji tip plastida je **hloroplast** (slika 114). Sadrži 70 S ribozom i prstenski hromozom. Umnožava se nezavisno od ćelije.



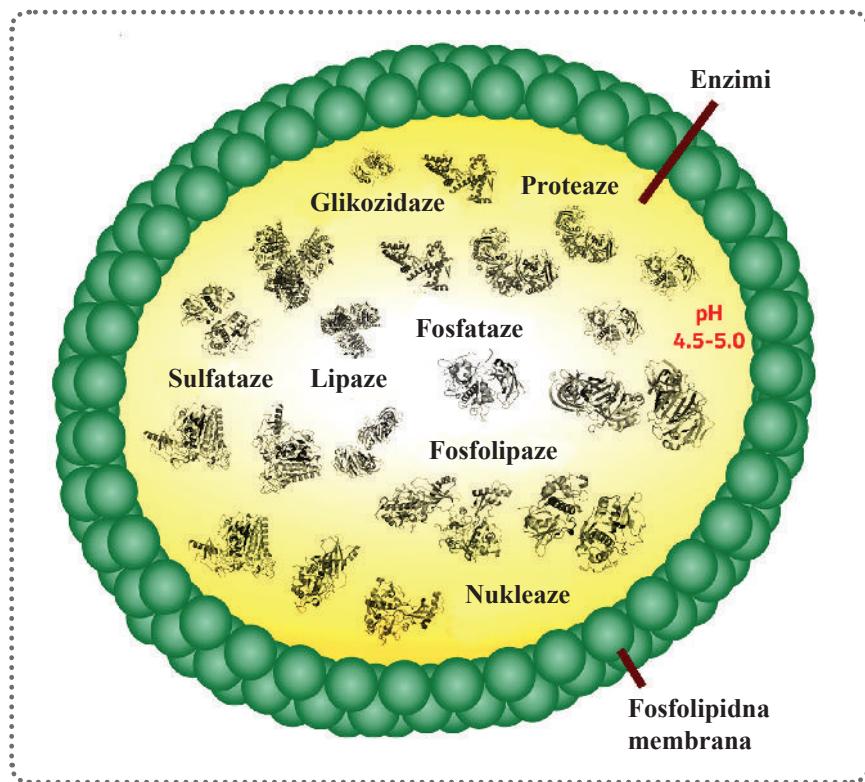
SLIKA 114 – Šematski prikaz građe hloroplasta

(<http://jovanilic1.wordpress.com/funkcioneri-organele/organele-koje-proizvode-energiju/structureofchloroplast-2/>)

Hloroplast sadrži pigment **hlorofil**. U hloroplastima se, uz pomoć sunčeve energije, iz ugljendioksida i vode sintetišu ugljeni hidrati. Oblik hloroplasta je **najčešće ovalan**, a može biti i peharast, mrežast, zrakast, zvjezdast, spiralan, pločast i cilindričan. Hloroplast je obavijen dvojnom membranom, a unutrašnjost mu je ispunjena matriksom koji je nazvan stroma. Matriks sadrži DNK, ribozome, masne kapi, granule skroba i kompleks unutrašnjih membrana koje se zovu **tilakoidi**. Kod nekih algi nekoliko diskolikih tilakoida su grupisani u tvorevine koje se zovu **grane** (granum – zrnce). Kod mrko-žutih algi plastidi su mrke ili žute boje i zovu se hromoplasti ili feoplasti. Mrka boja potiče od dopunskog pigmenta fiksantina. Kod crvenih algi plastidi su crveni a boja potiče od dopunskog pigmenta crvene boje fikoeritrina.

Lizozomi

Lizozomi su mala **sferična** tjelašca. Nalaze se u citoplazmi protozoa, nekih algi, gljiva, biljaka i životinja. Obavijeni su jednoslojnom lipoproteinskom membranom. U njima se nalaze **hidrolitički enzimi** koji vrše varenje hranljivih materija (slika 115). Enzimi dospijevaju u lizozom iz endoplazminog hrapavog retikuluma. Često se lizozomi spajaju sa hranljivom vakuolom i tako učestvuju u varenju. Nesvareni djelovi hrane iz lizozoma se transportuju u Goldžijev aparat, gdje se pripremaju za sekreciju van ćelije.



SLIKA 115 – Šematski prikaz građe lizozoma

Vakuole

Vakuole su tjelašca koja imaju lipoproteinsku opnu i nalaze se u ćeliji većine eukariotskih mikroorganizama. **Digestivne** (hranljive) vakuole su karakteristične za protozoe. Formiraju se oko čvrste hranljive čestice koju protozoa unosi preko usnog otvora. Nakon varenja hrane, vakuola nestaje. **Kontraktilne** (pulzativne) vakuole izbacuju vodu i razne metabolite iz ćelije. Nalaze se kod nekih protozoa (slika 116).



**SLIKA 116 – Kontraktilne vakuole kod protozoe
(paramecijum, TEM)**
(http://en.wikipedia.org/wiki/Contractile_vacuole)

Citoplazmatske inkluzije

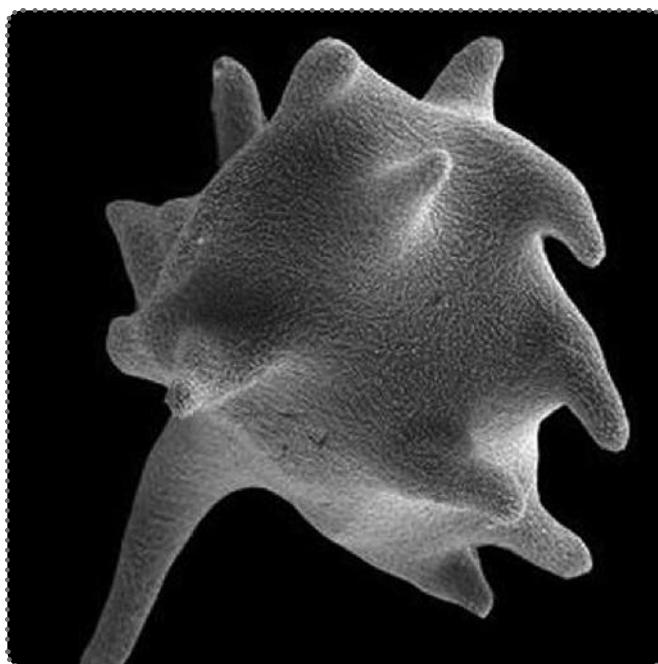
Ova tjelašca predstavljaju rezerve organskih i neorganskih materija. Glikogenska zrnca su nađena kod kvasaca i nekih končastih gljiva, dok su lipoproteinska zrnca nađena kod kvasaca.

Organele za kretanje

Organele za kretanje kod eukariotskih mikroorganizama su: **pseudopodije, flagele i cilije.**

Pseudopodije

Pseudopodije ili lažne nožice su organele za kretanje protozoa iz klase *Rhizopoda* (slika 117). To su povremeni ili stalni izdanci citoplazme. Izgled pseudopodija je različit kod različitih vrsta. Mogu biti debele i tupe, tanke i oštре.

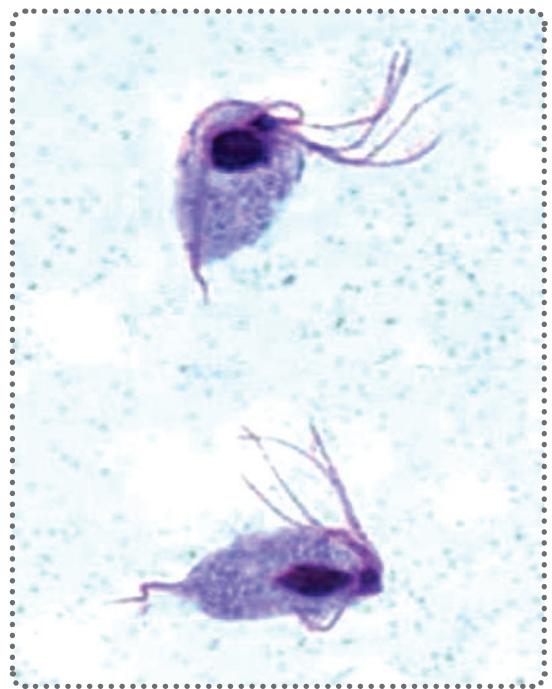


SLIKA 117 – Ameba (lažne nožice, SEM)

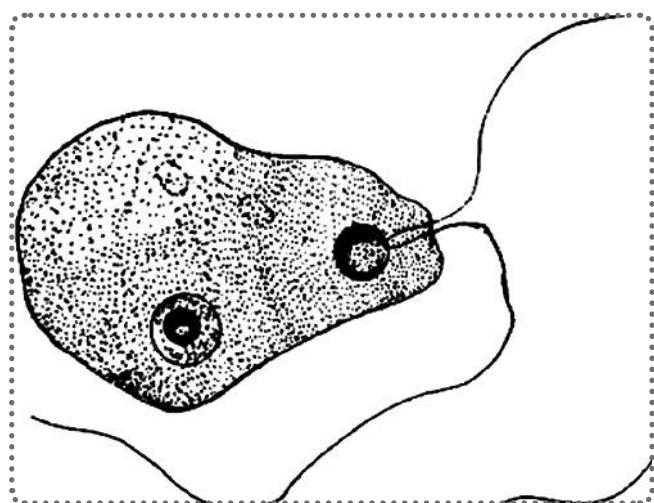
(http://www.isepsociety.com/~mosczz/isep_test/index.php?set_albumName=Leander_Lab&id=1_test&option=com_gallery&Itemid=&include=view_photo.php)

Flagele

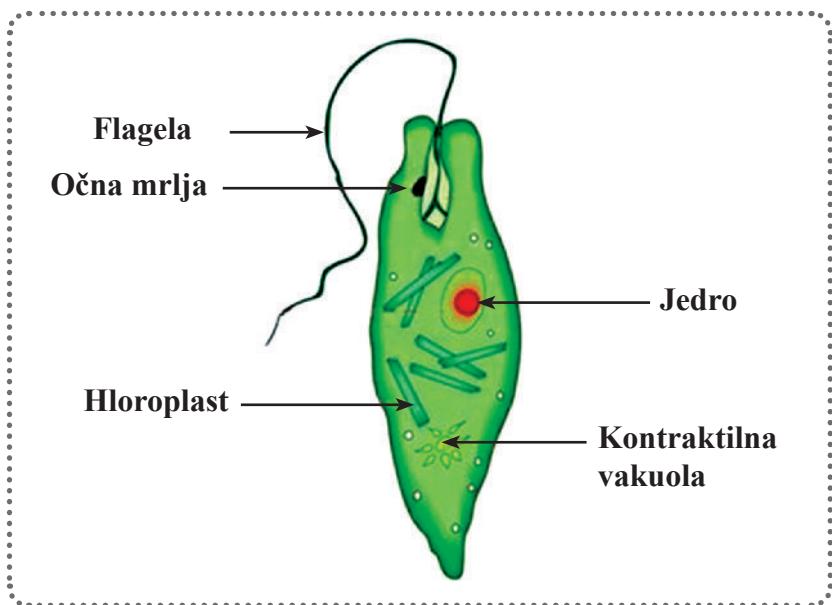
Flagele – bičevi su organele za kretanje protozoa i zelenih jednoćelijskih algi (slike 118, 119 i 120). Struktura flagele eukariotskih mikroorganizama je složenija. Oblika je cilindra, u kome je smješteno devet parova subfibrila u vidu cjevčica. Subfibrile su raspoređene kružno oko dvije centralne subfibrile i građene su od proteina. Prostor oko subfibrila je ispunjen matriksom, koji uglavnom sadrži lipide i u manjoj količini ugljene hidrate (slika 121).



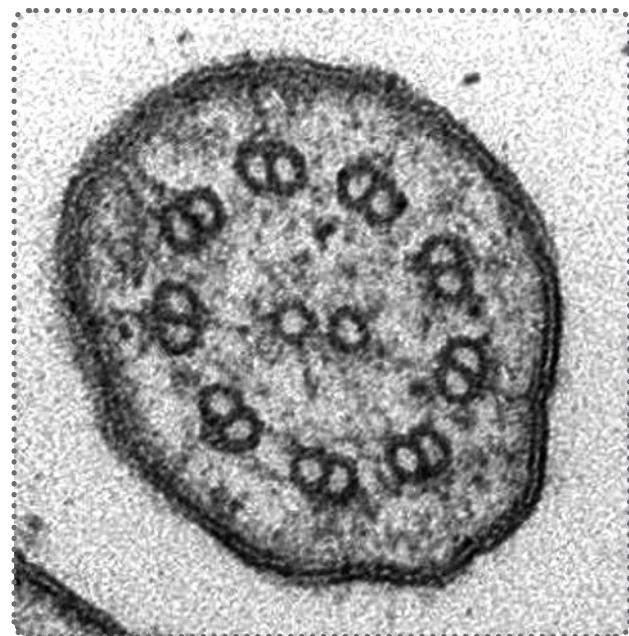
**SLIKA 118 – *Trichomonas gallinae*,
bojenje po Giemsi (Gimza), nativni preparat**
(http://en.wikivet.net/Trichomonas_gallinae)



SLIKA 119 – Šematski prikaz bičara (flagellata)
(<http://www.4shared.com/web/preview/doc/Qu5PEk8F>)



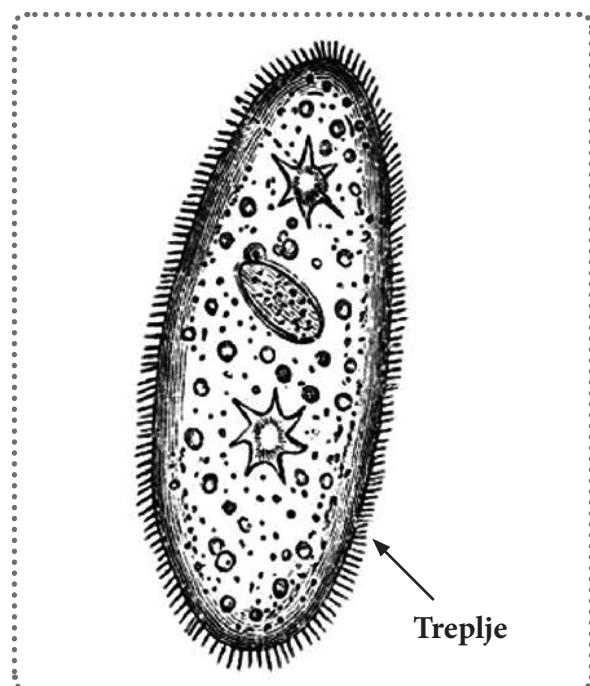
SLIKA 120 – Šematski prikaz euglene (*Euglena*) (razdio *Euglenozoa*)



SLIKA 121 – Poprečni presjek flagele
eukariotskih mikroorganizama (SEM)
(<http://tolweb.org/Eukaryotes/3>)

Cilije – treplje

Eukariotski mikroorganizmi se kreću i sa nešto finijim i tanjim organelama – cilijama, koje su po građi i hemijskom sastavu iste kao i flagele. Ove organele se nalaze kod protozoa iz grupe *Ciliata* (slika 122). Cilije kod protozoa mogu biti iste ili različite dužine, raspoređene po cijeloj površini ćelije, oko usnog otvora ili sa donje strane ćelije.



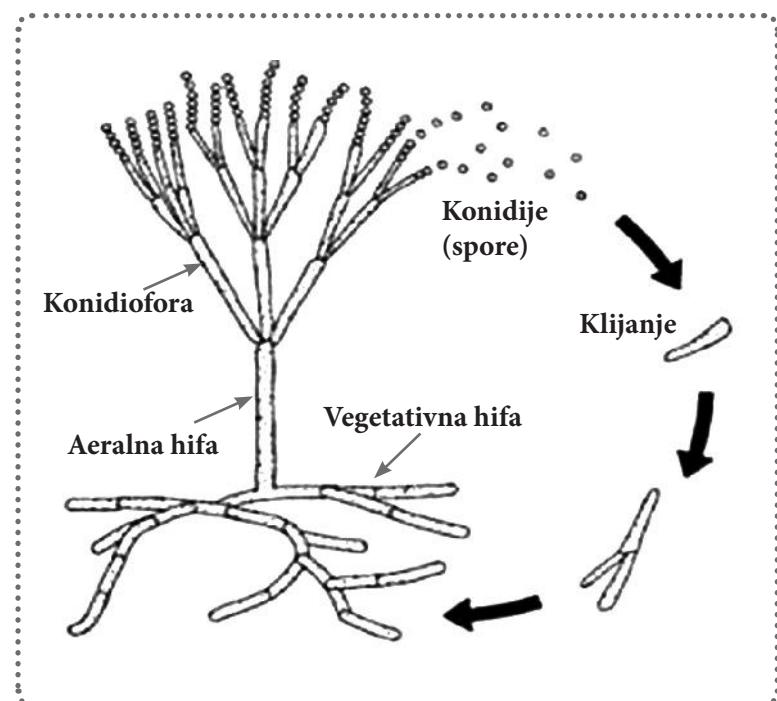
SLIKA 122 – *Ciliata* (trepljaš)
(http://etc.usf.edu/clipart/7300/7303/paramecium_7303.htm)

OBLICI ZA PREŽIVLJAVANJE EUKARIOTSKIH MIKROORGANIZAMA

Oblici za preživljavanje eukariotskih mikroorganizama mogu biti: **spore, ciste ili vegetativne forme sa zadebljalim ćelijskim zidom** (sklerocije, rizomorfe i dr.). Ciste i spore su oblici za konzervaciju – preživljavanje algi, gljiva i protozoa. Vegetativne tvorevine sa zadebljalim ćelijskim zidom mogu biti oblici za preživljavanje gljiva (pljesni).

Spore gljiva

Spore su rasplodne ćelije gljiva, preko kojih se gljive šire, razmnožavaju i održavaju (opstaju) u prirodi. Značajno su otpornije od hifa. One mogu nastati aseksualnim putem ili seksualnom konjugacijom muških i ženskih rasplodnih elemenata. Prve se zovu aseksualne (bespolne), a druge seksualne (polne) spore. Nastaju u reproduktivnim hifama vazdušnog micelijuma. Spore gljiva posjeduju dva omotača: spoljašnji zid – episporu i unutrašnji zid – endosporu. **Epispora** može da bude glatka, hrapava ili šupljikava. **Endospora** zatvara protoplazmu u kojoj se nalaze hranljive materije i jedno ili više jedara. Kada dospije u spoljnu sredinu, spora klija u vegetativnu ćeliju (slike 123, 124, 125 i 126).

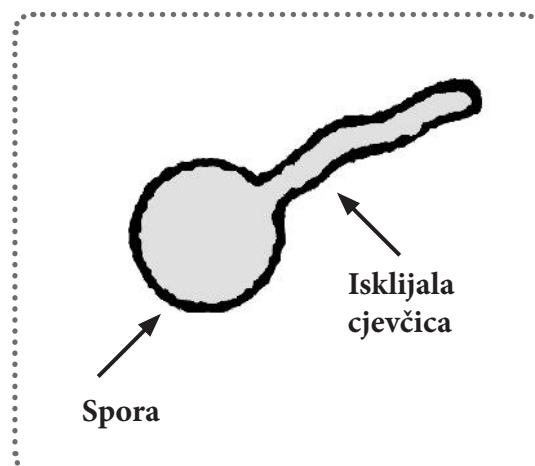


SLIKA 123 – Bespolne okrugle spore (konidije) *Penicillium spp.*

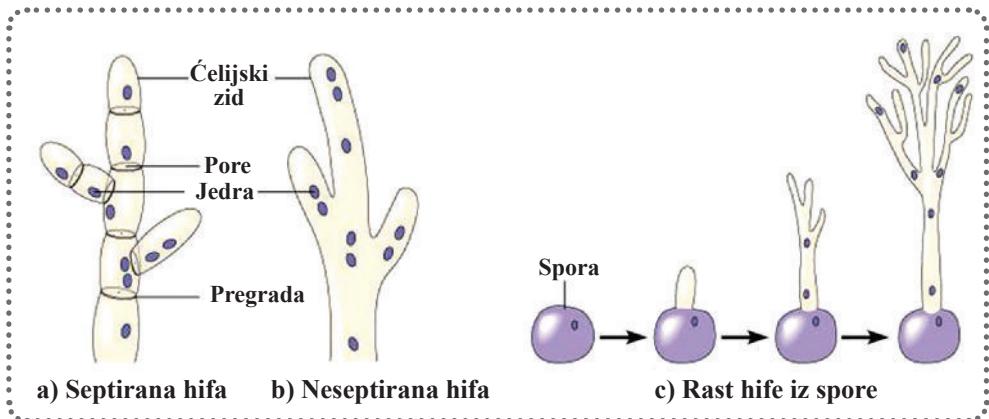


SLIKA 124 – Bespolne spore *Mucor* spp.

(<http://kidskunst.info/30/01711-mucor-culture.htm>)



SLIKA 125 – Klijanje spore u hifu



SLIKA 126 – Klijanje spore u hifu (u povoljnim uslovima)

Ciste

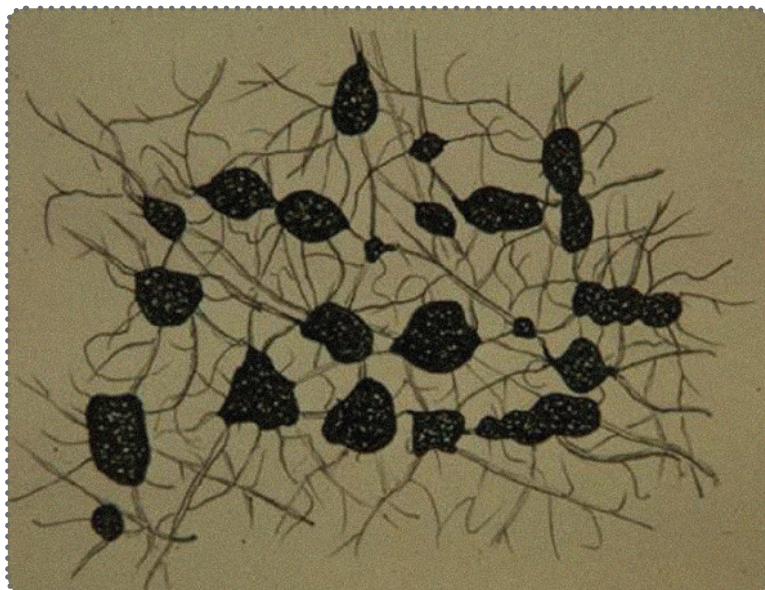
Ciste su oblici za **konzervaciju** protozoa i nekih algi. Okruglastog su oblika i debelih zidova (slika 127). U sastav zida cisti ulaze hitin, celuloza, kalcijum karbonat i silicijum dioksid, što im povećava otpornost prema nepovoljnim uslovima spoljne sredine.



SLIKA 127 – Cista amebe *Entamoeba histolytica*
(nativni preparat iz uzorka vode, bojen rastvorom joda)
(<http://www.waterpathogens.org/book/entamoeba-histolytica>)

Sklerocije i rizomorfe

Sklerocije predstavljaju **splet zbijenih hifa** sa zadebljalim spoljnim zidom (slika 128). Formiraju ih fitopatogene gljive.



SLIKA 128 – Sklerocije (sclerotium)

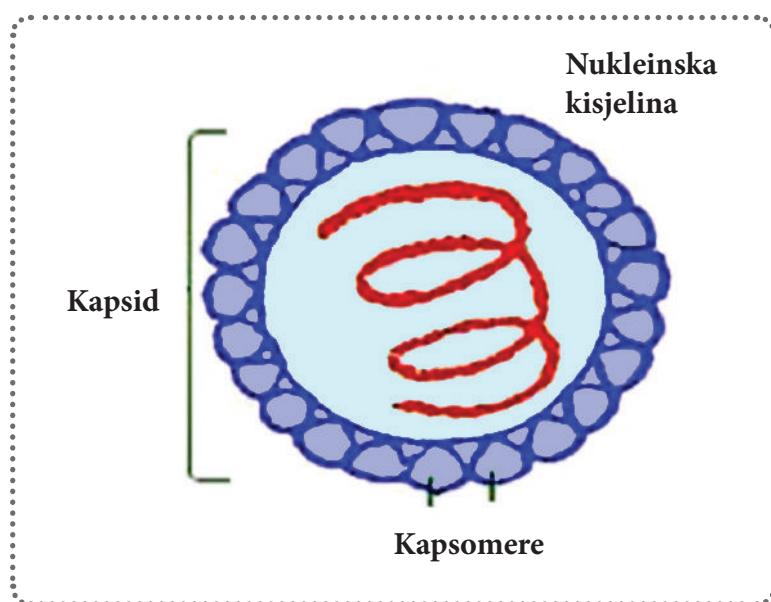
(<https://www.slideshare.net/JAYAKRISHNANK9/plant-diseases-70573937>)

Rizomorfe nastaju **uzdužnim povezivanjem hifa**, pa liče na pantljike.

MORFOLOGIJA VIRUSA – MIKROORGANIZAMA KOJI NEMAJU ĆELIJSKU GRAĐU

Virusi (lat. *virus* – otrov) su najsitniji mikroorganizmi, obligatni (obavezni) **intracelularni paraziti**, koji se mogu razmnožavati samo u ćelijama živih organizama (višećelijskih i jednoćelijskih). **Nemaju ćelijsku građu** (acelularni mikroorganizmi). Mogu biti različitog oblika: **štapićastog, nitastog, loptastog, kockastog, topuzastog**. Veličina im se kreće od 15 do 400 nm, pa su zato vidljivi samo elektronskim mikroskopom. Jedan od najvećih virusa je virus koji izaziva velike boginje – *pox virus* (200 x 300 nm, oblika je kvadra) a jedan od najmanjih je *poliovirus* – virus dječje paralize (28 nm).

Virusi su građeni iz dvije komponente. Jednu čini nukleinska kiselina – dvolančana ili jednolančana DNK ili RNK, a drugu **omotač** proteinske prirode. Nukleinska kiselina predstavlja jezgro virusa – nukleoid. Nukleoid čini virusni genom (skup svih gena), koga čini jedna kopija gena. Virusni genom može sadržati od nekoliko gena do nekoliko stotina gena. Proteinski omotač koji se nalazi oko nukleinske kiseline se zove **kapsid**; nukleinska kiselina zajedno sa kapsidom čini nukleokapsid. Nukleokapsid predstavlja osnovnu građu virusa. (slika 129). Kapsid je građen od velikog broja identičnih proteinskih subjedinica koje se zovu **kapsomere**. Neki virusi su obavijeni još jednom opnom koja se zove **peplos**. Peplos se sastoji iz glikoproteina i lipida.

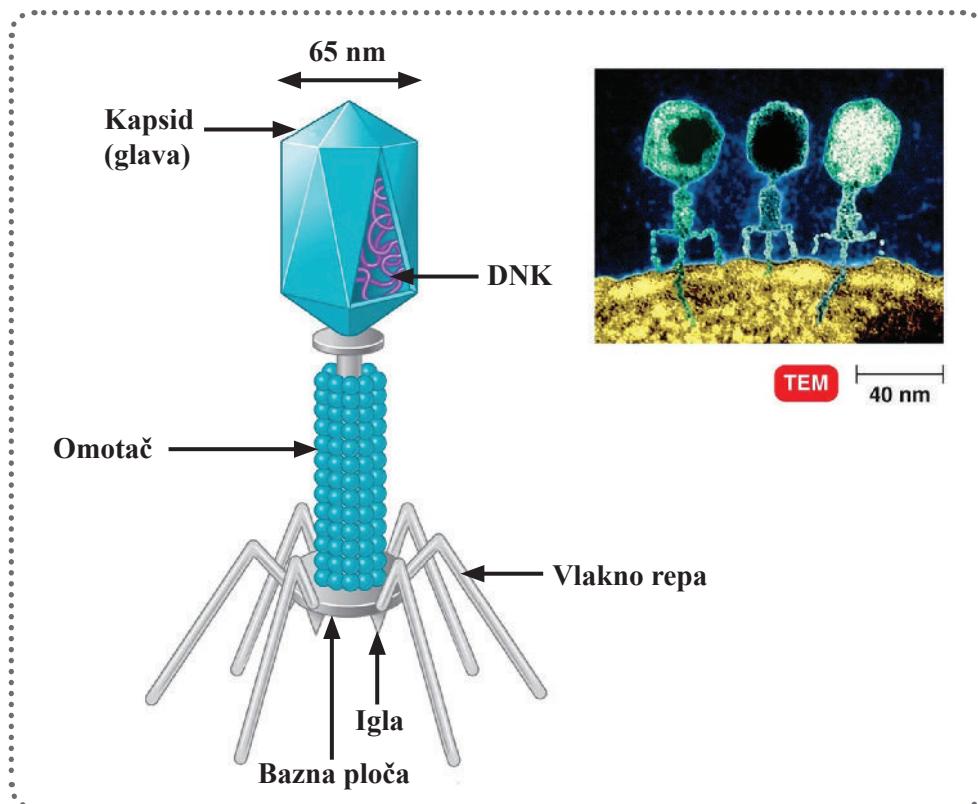


SLIKA 129 – Šematski prikaz građe virusa

GRAĐA FAGA – VIRUSA KOJI NAPADAJU BAKTERIJE

Virusi mikroorganizama zovu se **fagi**, a virusi bakterija **bakteriofagi**. Bakteriofagi su građeni od glave, vrata i repa što im daje topuzast oblik. U glavi bakteriofaga se nalazi genom koga može činiti jednolančana RNK, dvolančana RNK, jednolančana DNK ili dvolančana DNK. Genom može biti u obliku cirkularnog ili linearног molekula. Najčešće je u bakteriofagu prisutan samo jedan molekul nukleinske kiseline, ali kod nekih bakteriofaga može da bude prisutno i više molekula. Između glave i vrata se nalazi tzv. kragna (okovratnik) koja je u obliku diska, a građena je od pro-

teina. Vrat predstavlja šuplju cjevastu strukturu proteinske prirode koja se nastavlja na rep. Rep je takođe proteinske građe i mnogo je duži od vrata (slika 130). Rep bakteriofaga je kontraktilan i završava se bazalnom pločom, koja ima heksagonalni oblik. Iz bazalne ploče radijalno izlazi nekoliko izraštaja koji se nazivaju fibrili ili kukice. Uloga fibrila je u prepoznavanju određene – specifične bakterijske ćelije. Bakteriofagi imaju sposobnost da prodrui i da se umnožavaju u bakterijskim ćelijama, izazivajući njeno razaranje i na kraju njenu smrt.



SLIKA 130 – Šematski prikaz građe bakterijskog virusa – bakteriofaga

MORFOLOGIJA SUBVIRUSNIH ČESTICA

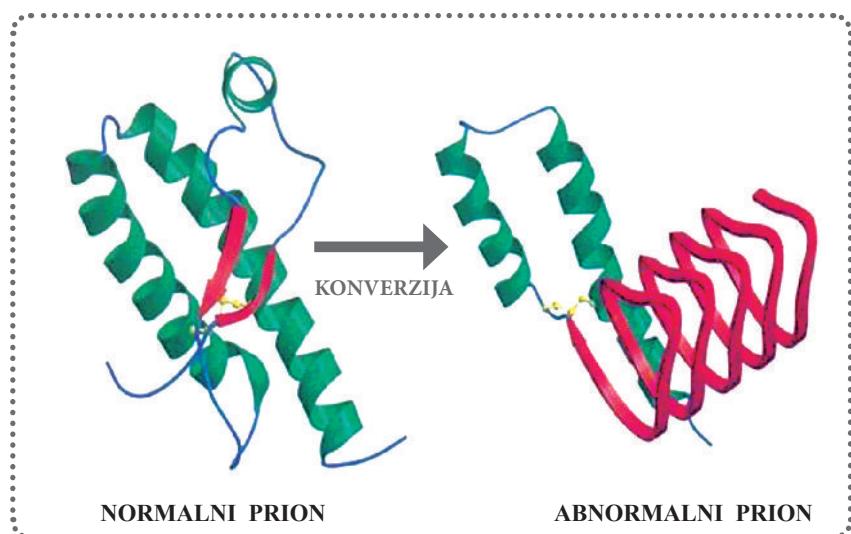
U subvirusne čestice se ubrajaju: virusni sateliti, viroidi, virusoidi i prioni. Kao što im i samo ime kaže, subvirusne čestice su jednostavniji živi agensi od virusa koji se sastoje isključivo od ogoljene nukleinske kiseline (izuzetak su prioni – koji su proteinske građe). Priroda subvirusnih čestica još uvijek nije dovoljno proučena.

Virusni sateliti su subvirusni agensi, koji su najbliži po građi pravim virusima. Većina ima jednolančanu RNK obavijenu vrlo jednostavnim proteinskim omotačem. Ovi agensi imaju nepotpun genom, pa se u inficiranoj ćeliji ne mogu umnožavati bez tzv. **virusa pomagača**.

Viroidi su još jednostavniji infektivni agensi, koji se sastoje isključivo od ogoljenog genoma, bez kapsida. Genom se sastoji od jednolančane cirkularne RNK. Viroidi su otkriveni kod većeg broja biljaka kod kojih izazivaju bolest.

Po svojoj građi, između viroida i virus-satelita nalaze se **virusoidi**. Oni imaju kratku RNK, koja je slična RNK viroida, ali je uvijek u vezi sa RNK nekog virusa.

Prioni (engl. *proteinaceous infectious particle*) su **patološki proteini** koji izazivaju bolesti kod ljudi i životinja. Nastaju kao posljedica mutacije gena koji je odgovoran za sintezu fiziološkog prion proteina (slika 131). Izmijenjeni proteini se mogu prenijeti na druge osobe, kod kojih **mijenjaju konformaciju normalnih prion proteina** i dovode do oboljenja. Patološki prion je otporan na dejstvo proteaza i nagomilava se u unutrašnjosti nervnih ćelija, što dovodi do degeneracije i izumiranja ćelija. Izazivaju oboljenja kod ovaca (skrepi), kod goveda bolest ludih krava i kod ljudi Creutzfeld-Jakob-ovu bolest. Vrlo su otporni na dejstvo temperature, formalina, ionizujućeg zračenja, nukleaza i proteinaza.



SLIKA 131 – Konverzija normalnog prion proteina u abnormalni prion protein

PITANJA

1. Šta izučava morfologija mikroorganizama?
2. Koje osobine mikroorganizama možemo proučavati svjetlosnim mikroskopom?
3. Koliko puta mikroorganizme uveličava svjetlosni, a koliko elektronski mikroskop?
4. Kakvu sliku mikroorganizama daje transmisiona, a kakvu skenirajuća mikroskopija?
5. Koje su mjerne jedinice za veličinu mikroorganizama?
6. Koji su osnovni oblici mikroorganizama?
7. Kako se dijele mikroorganizmi prema građi ćelije?
8. Koji mikroorganizmi pripadaju prokariotima?
9. Koji mikroorganizmi pripadaju eukariotima?
10. Koja je osnovna razlika između prokariota i eukariota?
11. Nacrtaj jednu prokariotsku ćeliju i objasni funkciju njenih omotača, unutrašnjih struktura i organela za kretanje.
12. Nacrtaj jednu eukariotsku ćeliju i opiši funkciju njenih organela.
13. Koji su oblici za preživljavanje mikroorganizama u nepovoljnim uslovima?
14. Šta je murein?
15. Koja je osnovna razlika u građi gram pozitivnih i gram negativnih bakterija?
16. Kako se boje gram pozitivne, a kako gram negativne bakterije?
17. Kako nastaju spore bakterija i koja im je funkcija?
18. Koju ulogu imaju spore bakterija, a koju spore gljiva?
19. Šta su hife?
20. Šta je micelijum?
21. Šta su pseudohife?
22. Šta su virusi i opiši njihovu građu?
23. Šta su viroidi?
24. Šta su virus-sateliti?
25. Šta su virusoidi?
26. Šta su prioni?

EKOLOŠKI FAKTORI KOJI DJELUJU NA MIKROORGANIZME

Ekologija je nauka koja izučava rasprostranjenost živih bića, kao i njihove međusobne odnose i načine prilagođavanja na uticaj faktora spoljne sredine. Ime ove nauke vodi porijeklo od grčkih riječi *oikos* – dom, domaćinstvo i *logos* – nauka. U određenom staništu (biotopu) djeluje veliki broj ekoloških faktora, čije je djelovanje povezano i međusobno uslovljeno. Skup svih živih organizama koji žive u jednom staništu predstavlja biocenuzu.

Ekološki faktori koji djeluju na mikroorganizme mogu biti abiotički i biotički. **Abiotički faktori** predstavljaju neživu prirodu i čine ih: voda, temperatura, kiseonik, kisjelost sredine, otrovna jedinjenja, svjetlost, osmotski pritisak, hidrostatički pritisak, radijacija i dr. **Biotički faktori** podrazumijevaju žive organizme i njihove međusobne uticaje. Djelovanje ekoloških faktora može biti direktno (ako direktno utiču na organizam) i indirektno (utiču na organizam mijenjajući uslove sredine).

Minimum i maksimum jednog ekološkog faktora su vrijednosti na kojima se zauštavlja aktivan život mikroorganizama. Optimum označava vrijednost faktora koja najpovoljnije djeluje na mikroorganizam i gdje je aktivnost mikroorganizma najveća. Mikroorganizmi, za razliku od drugih živih bića, imaju veliku sposobnost prilagođavanja na uslove spoljne sredine. Ta sposobnost i mala veličina ćelije omogućavaju im veoma široku rasprostranjenost i preživljavanje u najnepovoljnijim uslovima.

ABIOTIČKI FAKTORI

Voda

Voda je ekološki faktor koji neposredno utiče na život mikroorganizama. U ćeliji mikroorganizama voda čini 90%. Uloga vode je višestruka: omogućava odvijanje svih biohemijskih reakcija, održava osmotski pritisak i fizičko-hemiski stanje cito-plazme, omogućava usvajanje hranljivih materija, sprečava nakupljanje proizvoda metabolizma mikroorganizama i njihovo toksično dejstvo. Takođe omogućava kretanje mikroorganizama, pronalaženje hranljivih materija, izbjegavanje antagonista i dr. Pored vode koja se nalazi u ćeliji, za život mikroorganizama je važna i količina vode u spoljnoj sredini. Voda u spoljnoj sredini može biti **slobodna i vezana**. Za život mikroorganizama važna je slobodna voda, jer nju ćelija može da koristi. Količina

slobodne vode u određenoj sredini, odnosno vode koju mikroorganizmi mogu da koriste za razmnožavanje izražava se **aktivitetom vode** (aktivnošću vode, a_w). Ona predstavlja odnos parcijalnih pritisaka rastvora i rastvarača (čista voda).

Dostupnost vode u nekoj sredini smanjuju soli, šećeri i druga jedinjenja za koja se voda veže. Smanjenjem sadržaja slobodne vode u spoljnoj sredini usporava se rast, razmnožavanje i enzimska aktivnost mikroorganizama, pri čemu oni mogu preći u latentno stanje – stanje anabioze. Mikroorganizmi imaju različite zahtjeve prema slobodnoj vodi. Optimalna a_w vrijednost za većinu bakterija je 0,98, a za gljive i aktinomicete je manja. Gljive, aktinomicete i sporogene bakterije bolje preživljavaju u suvoj sredini nego alge, protozoe i asporogene bakterije.

Sadržaj vode se može smanjiti izdvajanjem vode **sušenjem** (kseroanabioza) ili **povećanjem sadržaja soli i šećera** (osmoanabioza). Kseroanabioza je našla praktičnu primjenu u sušenju sijena (slika 132), zrna, voća, mesa, ribe i sl., a osmoanabioza u konzervisanju voća i povrća (slika 133). Odnos mikroorganizama prema vodi značajan je i u biljnoj proizvodnji, jer u nedostatku ili višku slobodne vode u zemljištu dolazi do smanjenja mikrobiološke aktivnosti i proizvodnje humusa.



SLIKA 132 – Balirano osušeno sijeno

(<http://www.agrokub.com/sajmovi-dogadjanja/slavonsko-baranjsko-natjecanje-u-spremanju-sjenaze-u-rol-bale/3101/>)



SLIKA 133 – Konzervisano povrće dodatkom soli

(<https://sjeverni.info/nikako-ne-bacajte-tekucinu-iz-kiselih-krastavaca--ona-je-riznica-zdravlja>)

Neki mikroorganizmi za svoj rast i razvoj zahtijevaju veliku količinu slobodne vode (alge, protozoe i bakterije koje žive u slatkim i slanim vodama). Mikroorganizmi koji žive u zemljištu, prehrambenim proizvodima, stočnoj hrani i sl. (bakterije, gljive, neke alge i protozoe) za svoj rast i razvoj zahtijevaju vlažnost sredine oko 60%. Postoje i mikroorganizmi koji su prilagođeni životu u suvim supstratima i zahtijevaju male količine slobodne vode.

Temperatura

Mikroorganizmi direktno zavise od temperature spoljne sredine, jer nemaju sposobnost toplotne regulacije svoje ćelije. Optimalne temperature na kojima se mikroorganizmi razvijaju su veoma različite i kreću se od 0 do 75°C. Međutim, ima mikroorganizama koji mogu da se razvijaju i na -20°C i do iznad 100°C. Tolerantnost prema toploti je različita kod prokariota i eukariota. Prokarioti su nađeni u sredinama gdje su temperature iznad 100°C, u kipućoj vodi i u toplim izvorima. Eukarioti su **osjetljiviji** na visoke temperature. Protozoe ne rastu na temperaturama iznad 50°C, a alge i gljive obično ne rastu na temperaturama iznad 60°C.

Prema optimalnoj temperaturi potrebnoj za njihov rast i razmnožavanje, mikroorganizmi su podijeljeni na: psihrofilne, mezofilne i termofilne.

Psihrofilni mikroorganizmi žive na niskim temperaturama, zahvaljujući otpornosti njihovih enzima. Pripadaju uglavnom saprofitima, mada ima i patogenih vrsta koje izazivaju oboljenja kod riba i biljaka. Nalaze se u zemljištu na višim nadmorskim visinama, u hladnim izvorima i na velikim dubinama mora, jezera i rijeka. Značajni su za prehrambenu industriju, jer uzrokuju kvarenje hrane. Obligatni (obavezni, pravi)

psihirofilni mikroorganizmi imaju optimalnu temperaturu $5\text{--}15^{\circ}\text{C}$, minimalnu $0\text{--}7^{\circ}\text{C}$ i maksimalnu $20\text{--}22^{\circ}\text{C}$. Ovoj grupi mikroorganizama uglavnom pripadaju bakterije i gljive. U psihirofilne bakterije spadaju vrste iz rodova *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Micrococcus* i *Lactobacillus*, a u psihirofilne gljive vrste iz rodova: *Candida* i *Cladosporium*.

Fakultativni psihirofilni (psihirotrofi) zahtijevaju nešto više temperature za svoj život. Njihova optimalna temperatura za rast je $25\text{--}30^{\circ}\text{C}$, minimalna 0°C i maksimalna $30\text{--}35^{\circ}\text{C}$. U ovu grupu spadaju vrste iz rodova: *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Lactobacillus*, *Serratia*, *Vibrio*, *Streptococcus*, *Sarcina*, *Bacillus* i *Clostridium*.

Mezofilni mikroorganizmi imaju optimalnu temperaturu $20\text{--}40^{\circ}\text{C}$, minimalnu $10\text{--}20^{\circ}\text{C}$ i maksimalnu $40\text{--}45^{\circ}\text{C}$. U mezofilne mikroorganizme spada većina bakterija, gljiva, algi i protozoa koje žive u zemljištu, na prehrambenim proizvodima, stočnoj hrani, kao i u organizmu čovjeka i životinja.

Termofilni mikroorganizmi žive na višim temperaturama. Optimalna temperatura potrebna za njihov rast je $50\text{--}60^{\circ}\text{C}$, minimalna $40\text{--}45^{\circ}\text{C}$ i maksimalna $60\text{--}90^{\circ}\text{C}$. Posjeduju **termostabilne enzime**. Za razliku od fakultativnih termofila, obligatni termofili ne mogu da se razvijaju na 37°C . U grupi termofilnih mikroorganizama najviše ima bakterija, a manji broj algi i gljiva. Od bakterija najznačajniji predstavnici termofila su vrste iz rodova: *Bacillus*, *Clostridium*, *Thermoactinomyces* i *Methanobacterium*.

Obligatni i fakultativni termofili žive u dubljim slojevima zemljišta, silaži, stajnjaku, kompostu, toplim izvorima i sl. Ekstremno termofilni mikroorganizmi imaju optimalnu temperaturu između 80 i 110°C i ne mogu rasti ispod 55°C .

Otpornost mikroorganizama prema visokim i niskim temperaturama zavisi od: sadržaja vode u sredini i u samoj ćeliji, pH i sastava sredine, starosti mikroorganizama, mogućnosti mikroorganizma da stvara spore i ciste. Ćelije eukariotskih mikroorganizama su osjetljivije od prokariotskih.

Sporogeni mikroorganizmi su otporniji na visoke temperature od asporogenih. Višoke temperature ubijaju mikroorganizme, jer dolazi do koagulacije proteina i inaktivacije enzima u ćeliji. **Sterilizacija** je postupak uništavanja mikroorganizama primjenom temperature iznad 100°C (slika 134).

Pasterizacija je postupak uništavanja mikroorganizama primjenom temperature ispod 100°C (slika 135). Pasterizacijom se uništavaju vegetativni oblici mikroorganizama, dok spore preživljavaju.



SLIKA 134 – Autoklav

(https://chinawincom.en.alibaba.com/product/6061945_4156-803302510/Portable_Pressure_Steam_Sterilizer_For_Hospital.html)



SLIKA 135 – Pasterizator mlijeka

(<http://www.nc-steel.com/pasterizator.htm>)

Niske temperature nemaju toliko inhibitoran uticaj na mikroorganizme kao visoke. Veću otpornost na niske temperature imaju bakterije, gljive i virusi. Preživljavanje mikroorganizama na niskim temperaturama zavisi od toga da li se temperatura snižava postepeno ili naglo. Postepenim snižavanjem temperature u ćeliji dolazi do kristalizacije tečnosti. Kristali narušavaju finu strukturu citoplazme i organela, pa dolazi do **uginuća ćelije**. Na temperaturi od 5 do 9°C većina bakterija prelazi u latentno stanje. Praktična primjena ovakvih temperatura je u čuvanju prehrabbenih proizvoda od kvarenja mikroorganizmima. Naglim zamrzavanjem, voda iz ćelije prelazi u amorfnu zamrznutu masu koja **ne oštećeće ćeliju**. Ova pojava je našla praktičnu primjenu u čuvanju čistih kultura mikroorganizama (postupak **liofilizacije**, slika 136). U toku procesa liofilizacije, gusta suspenzija mikroorganizama se naglo smrzava (do -76°C) i izdvaja se voda iz ćelije. Pod vakuumom, voda iz smrznutog stanja prelazi direktno u gasovito (**sublimacija**), a ostali sastojci ćelije prelaze u **prškasto stanje**. Tokom procesa liofilizacije, materijal ne prolazi kroz tečnu fazu, što omogućava pripremu stabilnih suspenzija, jer ne dolazi do razvoja mikroorganizama. Liofilizovane proizvode nije potrebno čuvati u frižiderima, već se mogu čuvati na sobnoj temperaturi i više desetina godina.



SLIKA 136 – Liofilizator

(http://sklon-tech.en.frbiz.com/group-other_medical_equipment/32429787-lyophilizer_freeze_dryer_clickfor_more.html)

Kiseonik

Većina mikroorganizama za obavljanje procesa metabolizma zahtijeva prisustvo slobodnog kiseonika, ali je za neke i štetan. Prema zahtjevima za kiseonikom, svi mikroorganizmi su podijeljeni na: aerobne, anaerobne, fakultativno anaerobne i mikroaerofilne. **Aerobni** mikroorganizmi ne mogu da žive bez kiseonika. Kiseonik ima ulogu krajnjeg akceptora vodonika i elektrona u procesu disanja. Redukcijom kiseonika, prilikom disanja nastaju toksični proizvodi: superoksid radikali, vodonik peroksid, hidroksil radikal. Aerobni mikroorganizmi posjeduju enzime: superoksid dismutazu, katalazu, peroksidazu, koji ih štite od toksičnog efekta ovih proizvoda.

Fakultativno anaerobni mikroorganizmi rastu u sredini sa kiseonikom, ali ukoliko ga nema, rastu i bez prisustva kiseonika. **Anaerobni** mikroorganizmi ne mogu da koriste slobodni kiseonik i ne mogu rasti u njegovom prisustvu. Žive u dubljim slojevima zemljišta, sabijenom zemljištu, organima za varenje kod životinja i ljudi, mlijeku i mlječnim proizvodima, mesu i mesnim prerađevinama, silazi i dr. **Mikroaerofilni** mikroorganizmi rastu u atmosferi sa smanjenom koncentracijom kiseonika, odnosno povećanom koncentracijom ugljendioksida (3–10%).

Reakcija sredine

Reakcija sredine takođe ima značajan uticaj na mikroorganizme. pH predstavlja negativni dekadni logaritam koncentracije vodonikovih jona. Ako je $\text{pH}=7$, sredina je neutralna, pri $\text{pH}<7$, sredina je kisjela, a ukoliko je $\text{pH}>7$, sredina je bazna .

Prema optimalnoj pH reakciji sredine, mikroorganizmi su podijeljeni na: acidofilne, alkalofilne i neutrofilne. Optimalni pH za rast acidofilnih mikroorganizama je 5. Ovoj grupi pripadaju kvasci, pljesni i neke bakterije. Neke bakterije, pored toga što mogu da žive u kiseloj sredini, u toku svog metabolizma stvaraju kiseline, pa tako zakisje-ljuju sredinu u kojoj žive (**acidogeni mikroorganizmi**). Ovdje spadaju bakterije koje vrše mlječnu i sirčetu fermentaciju. Za neutrofilne mikroorganizme optimalan pH je 6,5–7,5. Ovoj grupi pripada većina bakterija, algi, protozoa i neke gljive. **Alkalofilni** mikroorganizmi zahtijevaju optimalni pH 8–10. **Alkalogeni** mikroorganizmi u toku svog metabolizma razgrađuju aminokiseline, pri čemu izdvajaju iz ćelije različita jedinjenja bazne prirode. Izdvojena jedinjenja alkalizuju sredinu i sprečavaju razvoj mikroorganizama osjetljivih na baznu reakciju.

Svjetlost

Najveći izvor svjetlosti na zemlji je sunčeva svjetlost, koja obuhvata infracrvene zrake, ultraljubičaste zrake i vidljivu svjetlost. Sunčeva svjetlost je za neke mikroorganizme neophodna, neke inhibira, a na neke ne djeluje. Prema tome kako svjetlost utiče na njih, mikroorganizmi mogu biti fotofilni, fotofobni i fotoindiferentni.

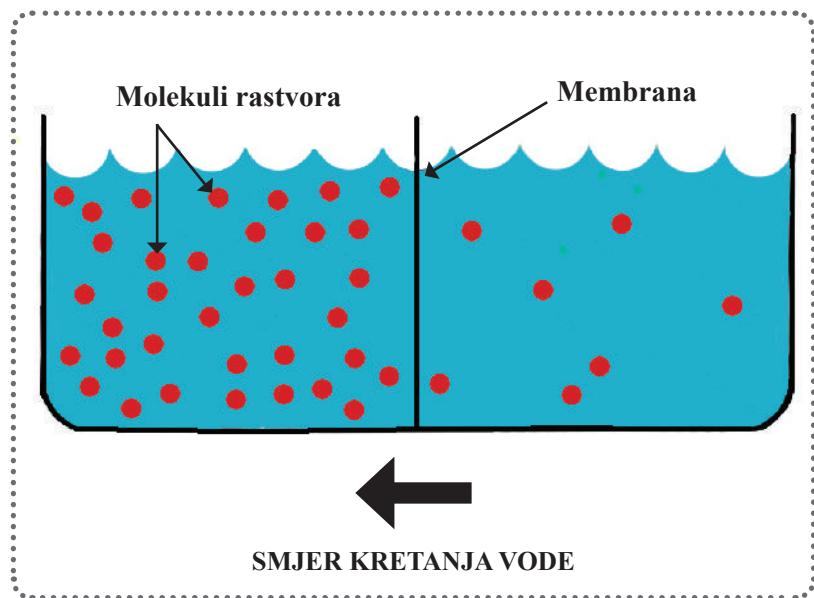
Fotofilni mikroorganizmi posjeduju zeleni pigment hlorofil, a neki i dopunske pigmente – karotenoide, fikobiline i fikocijanine. Svi ovi pigmeneti apsorbiraju svjetlost različitih talasnih dužina (250–1200 nm). U toku ovog procesa svjetlosna energija se transformiše u hemijsku, uz istovremenu sintezu ugljenih hidrata iz CO_2 i vode. U fotofilne mikroorganizme spadaju: alge, purpurne i zelene sumporne bakterije. **Fotofobni mikroorganizmi** nisu tolerantni na sunčevu svjetlost, jer ona preko UV zraka zaustavlja njihov rast i razvoj. U fotofobne mikroorganizme spadaju protozoe i najveći broj bakterija. **Fotoindiferentni mikroorganizmi** ne zahtijevaju svjetlost za rast, razvoj i razmnožavanje, ali im ona i ne smeta. Zahvaljujući tome što posjeduju pigmente koji filtriraju sunčevu svjetlost, ovi mikroorganizmi su zaštićeni od štetnog sunčevog zračenja.

Radijacija

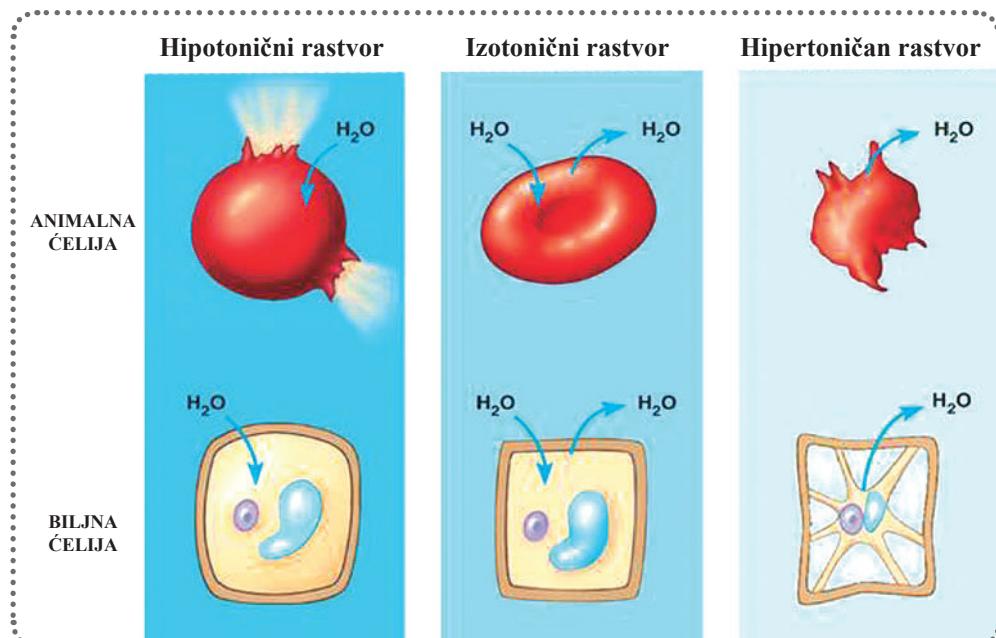
Pod radijacijom se podrazumijeva isijavanje i širenje UV zraka i jonizujućih zraka koji imaju kratku talasnu dužinu. Jonizujući zraci mogu biti: X, alfa, beta i gama zraci. Manje doze jonizujućih zraka izazivaju **mutacije**, a zatim **smrt**, dok veće doze direktno uzrokuju uginuće mikroorganizama. Jonizujući zraci u ćeliji kidaju vodo-nične veze, polimerizuju molekule, **denaturišu nukleinske kiseline**. Gama zraci iz kobaltnih izvora koriste se za hladnu sterilizaciju antibiotika, hormona, plastičnih posuda, medicinskih igala, sterilizaciju brašna i drugih vrsta hrane. Neke zemlje su uvele primjenu radijacije za sterilizaciju mesa i voća.

Osmotski pritisak je pritisak koji čestice rastvorene materije vrše na polupropustljivu membranu i on zavisi od koncentracije rastvorene materije. Osmoza predstavlja **prolazak vode** kroz polupropustljivu membranu, koja razdvaja dva rastvora različitih koncentracija (slika 137). U tom slučaju, molekuli vode prolaze u rastvor neke supstance koji je veće koncentracije.

Da bi ćelija usvajala vodu putem osmoze, koncentracija rastvora u ćeliji treba da je veća od koncentracije rastvora u okolini. Koncentracija rastvora u okolini ćelije u odnosu na koncentraciju rastvora u ćeliji može biti veća (**hipertoničan rastvor**), jednaka (**izotoničan rastvor**) i manja (**hipotoničan rastvor**) (slika 138). Kada se mikroorganizmi nalaze u hipertoničnom rastvoru, tada će voda iz ćelije izlaziti u spoljnu sredinu. To dovodi do dehidratacije ćelije, odvajanja citoplazmine membrane od ćelijskog zida i skupljanja protoplazme na sredinu ćelije. Ova pojava se naziva **plazmoliza**. Zbog izlaženja vode iz ćelije onemogućena je ishrana mikroorganizma. Ako se mikroorganizmi nađu u hipotoničnom rastvoru, tada će voda iz okoline putem osmoze ulaziti u ćeliju.



SLIKA 137 – Osmoza



SLIKA 138 – Prikaz kretanja molekula vode kroz ćelijsku membranu u zavisnosti od koncentracije rastvora u kome se ćelija nalazi

Ćelija mikroorganizma postaje sve veća, dok na kraju ćelijski zid i citoplazmina membra na ne puknu i protoplazma se izlije u okolinu. Ova pojava se naziva **plazmoptiza**. Ovo ukazuje da je za mikroorganizme najbolje kad su koncentracije rastvora u ćeliji i van ćelije jednake ili približno jednake (izotonični rastvori).

Osmofilni mikroorganizmi mogu da žive u rastvorima sa velikim osmotskim pritiskom. Ova svojstva najviše ispoljavaju kvasci. **Halotolerantni mikroorganizmi** podnose visoke koncentracije NaCl. Oni u svojoj ćeliji povećavaju koncentraciju rastvorenih supstanci i tako sprečavaju izlazak vode iz ćelije. **Halofilni mikroorganizmi** su adaptirani na život u hipertoničnim rastvorima u kojima većina mikroorganizama ne može da živi. Za svoj rast zahtijevaju visoke koncentracije NaCl (oko 2,8 M), a ekstremno halofilni zahtijevaju oko 6,2 M.

Hidrostatički pritisak

Hidrostatički pritisak je pritisak koji vrši tečnost na određenu površinu. Mikroorganizmi koji žive u velikim morskim dubinama, gdje je hidrostatički pritisak i do 1000 atmosfera, a temperature 2–3°C su **barotolerantni** i povećanje pritiska ne utiče na njih. **Barofilni** mikroorganizmi mnogo brže rastu u sredinama sa visokim pritiskom.

Hemijski agensi

Hemijski agensi mogu imati mikrobicidno dejstvo ili mikrobistatično dejstvo. **Mikrobicidi** uništavaju – ubijaju mikroorganizme, dok **mikrobistatici** zaustavljaju njihov dalji rast i razvoj. Prema vrsti mikroorganizama koje uništavaju, hemijski agensi mogu biti: baktericidi, fungicidi i viricidi. Hemijski agensi koji se koriste za uništavanje patogenih mikroorganizama na koži i sluzokoži ljudi nazivaju se **antiseptici**. Sam postupak uništavanja mikroorganizama hemijskim sredstvima na koži i sluzokoži zove se **antisepsa**.

Pod pojmom **asepsa** podrazumijeva se rad u uslovima koji onemogućavaju kontaminaciju i infekciju ljudi i životinja (npr. uslovi rada u operacionoj sali – sterilizacija instrumenata, nošenje maski i dr.).

Hemijska sredstva koja se koriste za uništavanje mikroorganizama na radnim površinama zovu se **dezinficijensi**. Dobar dezinficijens treba da je rastvorljiv u vodi i lipidima, da u malim koncentracijama uništava mikroorganizme, ne smije biti toksičan za ljude, ne smije biti korozivan, treba da je duže vrijeme stabilan. Mikrobicidno dejstvo hemijskih agenasa zasniva se na njihovoj sposobnosti da kod mikroorganizama izazivaju neke od sljedećih promjena: denaturaciju proteina, promjenu strukture i funkcije ćelijskog zida i citoplazmine membrane, vezivanje reaktivnih i prostetičnih grupa. Mikrobicidi koji vrše denaturaciju proteina su: alkoholi, kisjeline i baze. Alkoholi su najčešće korišćena dezinfekcionalna i antiseptička sredstva. Imaju baktericidno i fungicidno dejstvo, ali ne uništavaju bakterijske spore. Mikrobicidna moć kisjelina i baza je proporcionalna stepenu njihove

disocijacije. Jako disocirane kisjeline, kao što su hlorovodonična, sumporna i fosforana su mikrobicidi sa izuzetno jakim dejstvom. Slabije disosuju organske kisjeline (benzoeva kisjelina i dr.). Od baza se najčešće koristi kaustična soda, živi i gašeni kreč. Kaustična soda u koncentraciji od 0,1 do 6% uspješno ubija sve gram pozitivne i gram negativne bakterije. Mikrobicidi koji izazivaju promjenu strukture i funkcije ćelijskog zida i citoplazmine membrane su: deterdženti, fenoli. Mikrobicidi koji se vezuju za reaktivne grupe proteina su: teški metali i njihove soli, formaldehid, etilen oksid. Halogeni elementi, jod i hlor su značajni mikrobicidi. U većim koncentracijama uništavaju i spore bakterija.

Hemoterapeutici

Hemoterapeutici su hemijski sintetisana jedinjenja, koja imaju antimikrobnu dejstvo. Hemoterapeutici su antimikrobi lječivo, odnosno supstance, koje poslije apsorpcije u organizmu životinja ili ljudi uništavaju patogene mikroorganizme, a da pri tome ne djeluju toksično na organizam domaćina. Značajni hemoterapeutici su **sulfonamidi**. Oni djeluju bakteriostatički. Zbog sličnosti sa p-aminobenzoevom kiselinom (PABK), uključuju se u njen metabolizam, potiskuju je i sprečavaju sintezu folne kisjeline, neophodnog faktora rasta bakterija. Sulfonamidi ne inhibiraju one ćelije koje ne sintetišu folnu kiselinu, nego je koriste već sintetisanu. To su animalne ćelije i znatan broj mikroorganizama.

Antibiotici

Antibiotici su prirodni produkti rasta različitih vrsta bakterija i pljesni koji imaju antimikrobnu dejstvo. U niskim koncentracijama izazivaju smrt (baktericidno dejstvo) ili inhibiraju rast (bakteriostatičko dejstvo) mikroorganizama. Skoro sve antibiotike u širokoj upotrebi sintetišu bakterijski rodovi *Streptomyces* i *Bacillus* i rodovi gljiva *Penicillium* i *Cephalosporium*. Antibiotici se ekstrahuju iz hranljivih podloga na kojima se gaje mikroorganizmi. Engleski naučnik Fleming je slučajno otkrio dejstvo penicilina na bakterije, tako što je uočio da u zoni rasta pljesni *Penicillium notatum* ne rastu kolonije streptokoka.

Antibiotici se za potrebe medicine proizvode industrijski. Proces proizvodnje se sastoji u tome što se određeni sojevi pljesni ili sojevi bakterija kultivisu u odgovarajućim hranljivim sredinama. Nakon određenog vremena kultivacije, antibiotici se ekstrahuju iz podloge, prečišćavaju, koncentrišu, a zatim im se ispituje aktivnost i škodljivost. Neki antibiotici inhibiraju sintezu proteina, drugi sintezu nukleinskih kisjelina, ćelijskog zida ili citoplazmatične membrane.

Inhibitori sinteze peptidoglikana su: penicilini, vankomicin, bacitracin, novobiocin, cefalosporin C i dr. Imaju baktericidno i bakteriostatično dejstvo. Penicilini se dobijaju iz pljesni *Penicillium notatum*, vankomicin i novobiocin – iz aktinomiceta, a cefalosporin C – iz pljesni roda *Cephalosporium*.

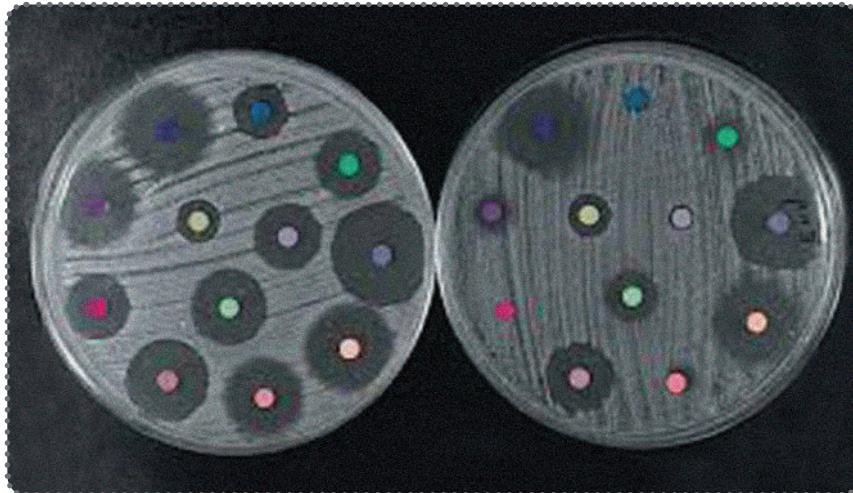
Antibiotici koji oštećuju čelijske membrane su tirotricin i polimiksin. Proizvode ih bakterije iz roda *Bacillus*. Djeluju baktericidno. Toksični su, pa se uglavnom primjenjuju lokalno.

Inhibitori sinteze proteina su: aminoglikozidi, tetraciklini, hloramfenikol i makrolidi. Od aminoglikozida najpoznatiji je streptomycin koji se dobija iz *Streptomyces griseus*, a zatim kanamicin, gentamicin i neomicin. Uglavnom djeluju baktericidno. Tetracikline proizvode aktinomicete iz roda *Streptomyces aureofaciens*, a djeluju bakteriostatički. Hloramfenikol se dobija iz *Streptomyces venezuelae*. Od makrolida najpoznatiji je eritromycin koji se dobija iz *Streptomyces erythreus*. Makrolidi su bakteriostatici pri niskim koncentracijama, a pri visokim djeluju baktericidno. Aktivni su prema gram pozitivnim bakterijama, dok su gram negativne rezistentne zato što ne prodiru u njih. Pored eritromicina, značajni makrolidi su i oleandomycin, spiramicin, tilozin, azitromycin, klaritromycin, roksitromycin i dr.

Inhibitori funkcije nukleinskih kiselina su: aktinomicin, mitomicin, rifamicin, streptovaricin i dr. Rifamicin je naročito aktivан prema gram pozitivnim bakterijama, a posebno prema uzročniku tuberkuloze. Od gram negativnih bakterija, osjetljive su bakterije iz roda *Neisseria* i *Haemophilus*.

Bakterije mogu biti **osjetljive ili otporne** (rezistentne) na dejstvo antibiotika. Rezistentne bakterije predstavljaju problem pri liječenju antibioticima. One mogu stići rezistentnost ukoliko dođe do mutacije, ili ukoliko plazmid koji nosi gene rezistencije na odredene antibiotike dospije u bakterijsku ćeliju. Postoji više mehanizama koji omogućavaju mikroorganizmima da ispolje rezistenciju. **Povećano razlaganje antibiotika** je mehanizam koji obično djeluje kod rezistencije nastale prenošenjem plazmida. Na primjer, stafilokoke rezistentne prema penicilinu sintetišu i luče penicilinazu (beta laktamazu), hidrolitički egzoenzim koji razlaže penicilin.

Smanjena propustljivost bakterijskih membrana je takođe jedan od mehanizama rezistencije prema antibioticima. Poznato je da su gram negativne bakterije otpornije prema antibioticima zbog slabije propustljivosti čelijske membrane. Pojava rezistencije se smanjuje izbjegavanjem nepotrebne i česte upotrebe antibakterijskih lijekova, pravilnim doziranjem i dužinom trajanja primjene lijeka i izbjegavanjem upotrebe više antimikrobnih lijekova odjednom. Antibiotike treba primjenjivati racionalno, dakle, samo ukoliko se pouzdano zna da je životinja oboljela od bakterijske infekcije (poznavanje tačne dijagnoze bolesti) i ako se zna antibiogram (antibiogram predstavlja rezultat *in vitro* ispitivanja bakterijske osjetljivosti na različite antibiotike i hemiotherapytike, slika 139). Antibiotike treba primjenjivati dovoljno dugo da bi se postigla potpuna eradičacija bolesti. Štetno dejstvo antibiotika je višestruko. Djeluju toksično, alergijski, teratogeno, kancerogeno, dovode do rezistencije na antibiotike i dr.



SLIKA 139 – Antibiogram – prosvijetljene zone inhibicije
(<https://www.alpfmedical.info/causative-agent/strain-differences.html>)

BIOTIČKI FAKTORI

Odnos između mikroorganizama

Odnosi u životnim zajednicama su nastali kao rezultat dugotrajne borbe živih bića za opstanak. Odnosi između mikroorganizama su grupisani u dvije grupe: simbioza i antbioza.

Simbioza je način života u kome dvije ili više vrsta organizama žive zajedno u manje ili više korisnim zajednicama. Simbioza je veoma čest odnos između mikroorganizama i drugih živih bića. Prema stepenu koristi, odnosi u simbiozi se ispoljavaju kao mutualizam, komensalizam ili metabioza. **Mutualizam** je najidealniji tip simbioze koji se uspostavlja između dva ili više mikroorganizama i u kome svi učesnici imaju podjednake koristi. Rast i razmnožavanje u ovakvim zajednicama su obično bolji nego kad su organizmi odvojeni. Kao primjer može poslužiti simbiotska zajednica gljiva i algi (lišaj, slika 140), azotofiksatori i celulolitički mikroorganizmi u zemljištu, azotofiksatori i alge, mikroorganizmi kefirnog zrna (slika 141) i dr.

Lišaj, lišaji ili lišajevi (lat. *Lichenes*) su izgrađeni od algi i gljiva, združenih u mutualističku simbiotsku zajednicu. Glavni dio, od koga zavisi oblik i izgled lišaja i koji količinski preovlađuje, je gljiva. Članovi ove simbioze se međusobno dopunjaju tako što alge vrše fotosintezu, a gljive svojim hifama upijaju iz podloge vodu sa

mineralnim solima. Dakle, u ovoj simbiotskoj zajednici, gljive snabdijevaju alge potrebnim materijama iz supstrata, a alge proizvode organsku materiju kojom se hrane gljive. Vegetativno tijelo lišaja naziva se talus. U zavisnosti od vrste, on može biti različito obojen: mrko, zeleno, narandžasto, žuto pa do skoro potpuno crno.



SLIKA 140 – Lišaj (*Lichenes*) na stablu drveta

(<https://www.arborrangers.com/general-news/are-lichens-bad-for-trees/?v=e71bc9c013d9>)



SLIKA 141 – Kefirna zrna

(<http://astma.rs/ishrana/kefir-napitak-dugovecnosti>)

U unutrašnjosti **kefirnog zrnca** je gusti sloj sastavljen od bakterija mlijecne kisjeline, a na površini se nalaze kvasci. Bakterije mlijecne kisjeline fermentišu laktozu do mlijecne kisjeline koju kvasci koriste kao izvor ugljenika. S druge strane, vitaminii koje sintetišu kvasci pomažu rast bakterija mlijecne kisjeline.

Komensalizam predstavlja odnos između organizama u kome jedni članovi imaju koristi, a drugi nemaju ni koristi ni štete. Primjer je odnos aerobnih i anaerobnih mikroorganizama. Aerobni mikroorganizmi potroše kiseonik i omogućuju nakon toga život anaerobima. **Metabioza** je vid simbioze u kome produkte metabolizma jednog mikroorganizma koristi drugi mikroorganizam. Članovi ove zajednice ne moraju da žive zajedno, već jedni stvaraju uslove za život drugih. Primjer su amonifikatori koji vrše razgradnju proteina do amonijaka, pri čemu stvaraju uslove za razvoj nitrifikatora. Nitrifikatori vrše oksidaciju amonijaka do nitrata, pri čemu stvaraju uslove za razvoj denitrifikatora koji vrše redukciju nitrata do elementarnog azota. Elementarni azot se uz pomoć azotofiksatora ponovo pretvara u organski oblik. U procesu kruženja ugljenika, celulolitički mikroorganizmi vrše razlaganje celuloze do glukoze, koju potom kvasci fermentišu do alkohola. Alkohol mogu da koriste sirćetne bakterije, pri čemu nastaje sirćetna kisjelina, koju mogu da koriste pojedine gljive.

Antibioza (antagonizam) je odnos u kome jedan organizam sprečava razvoj drugog organizma ili ga direktno uništava. On se ispoljava kao direktan ili indirektan antagonizam. Direktan antagonizam (predatorstvo) je takav odnos u kome se jedni mikroorganizmi hrane drugima.

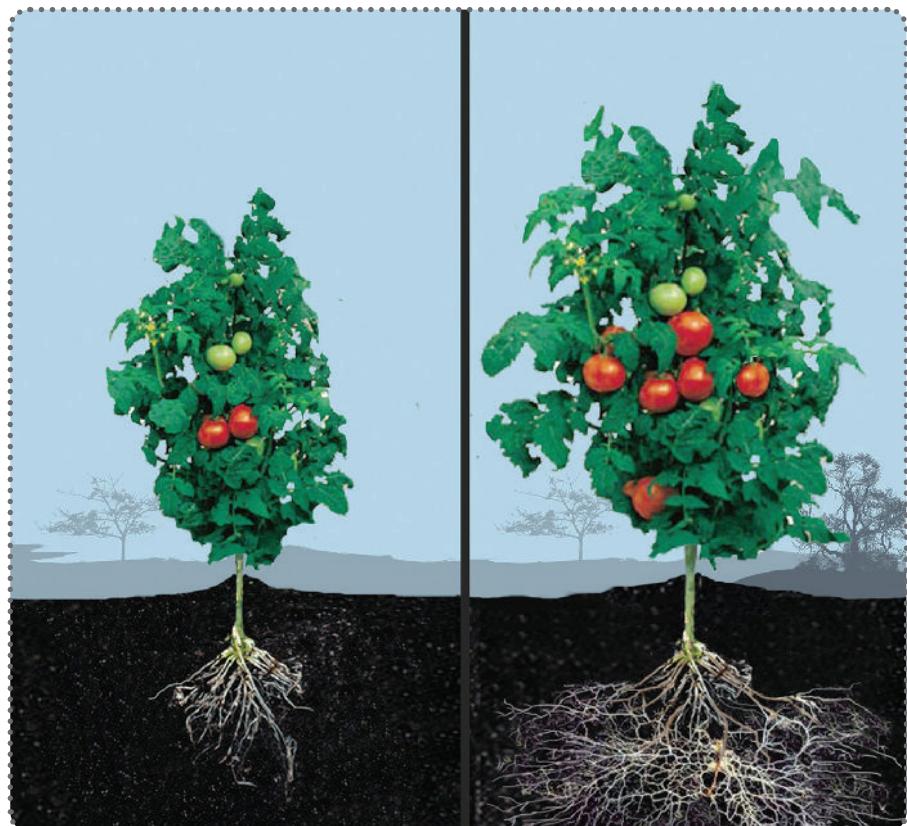
Primjeri su ishrana protozoa bakterijama i algama, razvoj litičnih virusa u ćelijama domaćina itd. Indirektan antagonizam podrazumijeva uništavanje članova zajednice produktima metabolizma ili borbotom za hranljive materije. Proizvodi metabolizma su antibiotici, kisjeline, baze i dr. Tako na primjer, proizvodnjom mlijecne kisjeline, bakterije mlijecne kisjeline sprečavaju razvoj proteolitičkih bakterija.

Odnosi između mikroorganizama i biljaka

Odnos između mikroorganizama i biljaka takođe može biti **simbiotski ili antagonistički**. Život biljaka direktno zavisi od mikroorganizama, jer mikroorganizmi razgrađuju složena organska jedinjenja do mineralnih, pogodnih za ishranu biljaka. Neki mikroorganizmi imaju zaštitnu ulogu, a neki su izazivači bolesti biljaka.

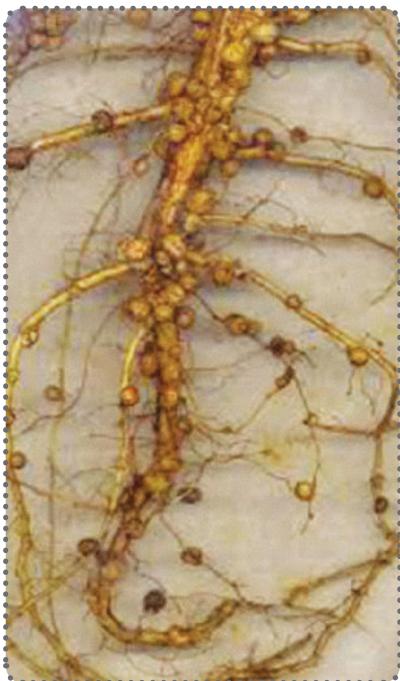
Simbiotske zajednice biljaka (korijena) i gljiva se zovu **mikorize**. Micelijum gljiva obavija korijenje (slika 142). Na ovaj način, on funkcionalno zamjenjuje korjenove dlačice, olakšavajući biljci primanje mineralnih supstanci. Simbiotski azotofiksatori, bakterije iz roda *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium* žive u simbiozi sa leguminoznim biljkama.

Ove bakterije se razmnožavaju u ćelijama korijenskih dlačica, stimulišući tako diobu ćelija korijena. Kao rezultat povećanog broja biljnih ćelija na korijenu, stvaraju se izraštaji koji se zovu **node** ili **kvržice** (slika 143). Bakterije u kvržicama vrše fiksiranje azota iz vazduha. Fiksirani azot predaju biljci, a biljka obezbeđuje bakterijama energiju i ugljene hidrate.



SLIKA 142 – Mikoriza – desno

(https://giantveggiegardener.files.wordpress.com/2013/06/myco_tomato2plantsedit.jpg)



SLIKA 143 – Kvržice na korjenovom sistemu soje
(<http://tloznanstvo.com.hr/nitrobakterin.html>)

Pored korisnih zajednica, između mikroorganizama i biljaka se uspostavljaju i antagonistički odnosi, tako da postoje fitopatogene gljive i bakterije koje izazivaju oboljenja biljaka.

Odnos mikroorganizama i životinja

Mikroorganizmi naseljavaju spoljašnje i unutrašnje organe životinja gradeći posebne zajednice. **Spoljašnja mikroflora** naseljava kožu, dlaku, tjelesne otvore, gdje žive na račun izlučevina organizma životinje. Usna duplja je sredina bogata hranljivim materijama. Temperatura, vlažnost i neutralna do alkalna reakcija usne duplje pogoduje razvoju bakterija i kvasaca. Na koži životinja koje žive na kopnu najviše ima okruglih bakterija iz roda *Staphylococcus* i *Streptococcus*. Pošto su izložene sunčevoj svjetlosti, ove bakterije imaju zaštitne pigmente. U normalnim uslovima, spoljašnja mikroflora ne izaziva nikakve poremećaje, ali ako se namnoži u većem broju, može dovesti do pojave oboljenja. **Unutrašnja mikroflora** naseljava organe za varenje u velikom broju. Uslovi, kao što su stalno prisustvo hranljivih materija i tečnosti, temperatura 38–42°C pogoduju razvoju mikroorganizama u buragu. Zato je burag idealna sredina za njihov razvoj. U ovoj specifičnoj sredini zastupljeni su svi oblici interakcije između mikroorganizama. Mikroorganizmi koji žive u buragu su: anaerobni, neutrofilni i terofilni. Nalaze se vezani za zid buraga i u njegovom sadržaju (slika 144).



SLIKA 144 – Papile zida buraga

(http://courses.washington.edu/chordate/453photos/gut_photos/mammal_digestiv_photos.htm)

U buragu su najbrojnije bakterije, koje se zajedničkim imenom zovu ruminobakterije. Broj im se kreće i do $10^{10}/\text{g}$. Pored bakterija, u buragu se u velikom broju nalaze i protozoe iz grupe **Ciliata** (oko $10^6/\text{g}$). U zavisnosti od supstrata koje koriste, u buragu su zastupljeni sljedeći mikroorganizmi: razлагаči celuloze, hemiceluloze, pektina, skroba, prostih šećera, proteina, lipida, bakterije koje koriste kiseline i bakterije koje proizvode vodonik i metan. Osnovna uloga mikroorganizama koji žive u buragu je digestija i fermentacija celuloze i hemiceluloze. Pored izuzetno korisne uloge mikroorganizama u organima za varenje, neki mogu biti i patogeni. To su npr. bakterije: *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*, *Salmonella*, *Escherichia coli*, plijesni iz rođova *Aspergillus*, *Fusarium*, virusi itd.

PITANJA

1. Šta je ekologija?
2. Šta je biocenoza?
3. Koji abiotički faktori djeluju na mikroorganizme?
4. Koji biotički faktori djeluju na mikroorganizme?
5. Šta je aktivnost vode?
6. Kako se može smanjiti aktivnost vode i gdje su ti postupci našli praktičnu primjenu?
7. Kako se dijele mikroorganizmi prema optimalnoj temperaturi potrebnoj za njihovo razmnožavanje i navedi koje su to temperature?
8. Šta je liofilizacija i gdje je našla primjenu?
9. Kako se dijele mikroorganizmi prema njihovom odnosu sa kiseonikom i objasni?
10. Kako se dijele mikroorganizmi prema optimalnoj pH reakciji sredine potrebnoj za njihovo razmnožavanje i koje su to optimalne vrijednosti?
11. Šta je osmotski pritisak?
12. Kako osmotski pritisak može djelovati na mikroorganizme?
13. Objasni dejstvo visokih koncentracija soli na mikroorganizme.
14. Gdje je postupak soljenja našao primjenu u prehrambenoj industriji?
15. Kako utiču svjetlost i ionizujući zraci na mikroorganizme?
16. Šta su antiseptici?
17. Šta je antisepsa?
18. Šta je asepsa?
19. Šta su dezinficijensi?
20. Koja su najznačajnija hemijska sredstva koja imaju mikrobicidno dejstvo?
21. Šta su hemioterapeutici?
22. Šta su antibiotici?
23. Na koji način antibiotici djeluju na mikroorganizme?
24. Koje je štetno dejstvo antibiotika na ljude?

25. Kakav može biti odnos mikroorganizama?
26. Šta su lišajevi?
27. Kakav može biti odnos mikroorganizama i biljaka?
28. Šta je mutualizam, komensalizam i metabioza?
29. Koja je uloga krvžičnih bakterija (simbiotskih azotofiksatora) u biljnoj proizvodnji?
30. Kakav može biti odnos mikroorganizama i životinja?
31. Zašto je burag pogodna sredina za razvoj mikroorganizama?
32. Koji mikroorganizmi žive u buragu i koja je njihova uloga?

ISHRANA I METABOLIZAM MIKROORGANIZAMA

ISHRANA MIKROORGANIZAMA

Da bi opstali, mikroorganizmima su za život potrebni određena **vlažnost**, **hranljiva jedinjenja i energija**. U sredini u kojoj se nalaze, mikroorganizmi treba da imaju dovoljno hranljivih materija za sintezu sopstvenih makromolekula da bi mogli da rastu i razmnožavaju se. Ćelija mikroorganizama dnevno upotrijebi 20–30 puta više hranljivih materija nego što iznosi njena masa. U prirodi se te hranljive materije nalaze u vodi, zemljištu, truloj organskoj materiji, životinjskim ili biljnim organizmima, u obliku suspenzija ili rastvora. Voda je najzastupljenija komponenta u gradićelije i u njoj se vrše svi metabolički procesi. Ćeliju mikroorganizama čini voda (75–90%) i suva materija (10–25%). Voda se u ćeliji uglavnom nalazi u slobodnom obliku. Suvu materiju čine organska (80–90%) i neorganska jedinjenja. Od organskih jedinjenja najviše ima proteinskih materija: nukleoproteina, polipeptida i aminokiseline.

Razni mikroorganizmi pokazuju vrlo različite potrebe u ishrani. Neki mikroorganizmi koriste neorganska jedinjenja, a drugi organska. Ima ih koji mogu, zavisno od uslova sredine, da koriste jedna ili druga.

Ugljenik, kiseonik, vodonik, azot, sumpor i fosfor su tzv. biogeni elementi, jer su značajni za sintezu organskih jedinjenja od kojih su izgrađene mikrobne ćelije. Mikroorganizmi mogu da koriste organska i neorganska jedinjenja ugljenika, azota, fosfora, sumpora i dr. i tako učestvuju u njihovom kruženju u prirodi. Ugljenik je jedan od najvažnijih makroelemenata u ishrani mikroorganizama. Čini oko 50% suve materije ćelije.

Izvori ugljenika: mikroorganizmi koriste ugljenik iz CO_2 karbonata ili mnogo češće iz organskih jedinjenja, kao što su razni alkoholi, aldehidi, ketoni, ugljeni hidrati, glukozidi, masne i aminokiseline. Najvažniji izvor ugljenika su ugljeni hidrati.

Izvori azota: mikroorganizmi ne mogu da žive bez azota, jer od njega izgrađuju aminokiseline, purinske i pirimidinske baze i dr. Glavni izvori azota su nitriti, nitrati, amonijak, amonijačne soli, elementarni azot, a za bakterije koje izazivaju bolesti ljudi i životinja razne aminokiseline.

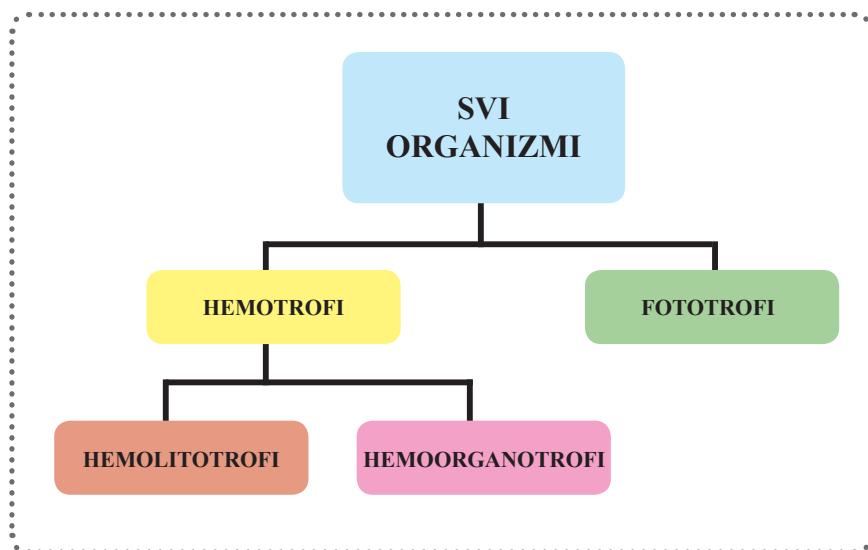
Izvor fosfora su organska i neorganska jedinjenja fosfora. Organska jedinjenja fosfora su nukleoproteidi, ATP, a neorganski oblici su fosfati.

Izvor sumpora su sulfidi, elementarni sumpor, sulfati, amonijum sulfat, a za neke mikroorganizme proteini koji sadrže aminokiseline sa sumporom, kao što su cistin, cistein i metionin.

U odnosu na **izvor ugljenika** koji koriste u ishrani, mikroorganizmi se dijele na **autotrofne i heterotrofne**. Autotrofni mikroorganizmi za ishranu i sintezu organskih jedinjenja koriste ugljenik iz ugljendioksida (fotoautotrofne – fotosintetske i hemo-autotrofne bakterije). **Heterotrofne** za ishranu i sintezu organskih jedinjenja koriste organska jedinjenja, proteine, ugljene hidrate, masti i dr. (sve gljive, većina bakterija, protozoe, neke alge). Heterotrofi koji koriste ugljenik iz mrtve organske materije zovu se saprofiti, a oni koji koriste ugljenik iz živog organizma zovu se paraziti. **Miksotrofni** mikroorganizmi mogu da koriste i organske i neorganske izvore ugljenika.

Energija omogućava cjelokupan ćelijski rad, koji je neophodan za kretanje, rastenje i metaboličke procese mikroorganizama. Mikroorganizmi se razlikuju i po izvorima energije koja im je neophodna za obavljanje biohemičkih procesa.

U odnosu na **izvor energije** koji koriste, mikroorganizmi se dijele na: **fototrofe** – koriste energiju sunčevog zračenja, **hemotrofe** – obezbjeđuju energiju oksidacijom raznih organskih (hemoorganotrofi) i neorganskih jedinjenja (hemolitotrofi) (slika 145) i **miksotrofe**, koji mogu da koriste i jedan i drugi izvor energije.



U odnosu na izvor azota, mikroorganizmi se dijele na: **aminoautotrofe** – koriste azot iz neorganskih jedinjenja (bakterije rodoa *Rhizobium*, *Azotobacter*; *Clostridium*, neke alge i cijanobakterije) i **aminoheterotrofe** – koriste organska jedinjenja sa azotom.

Izvori neorganskih jona: neorganski joni su veoma rasprostranjeni u prirodi, pa bakterije lako dolaze do njih. To su: natrijum, kalijum, kalcijum, mangan, gvožđe, cink, magnezijum, kobalt, bakar, molibden i dr. Bakterije dobijaju vodonik iz vode i raznih organskih i neorganskih jedinjenja. Neorganske materije su veoma važne za život mikroorganizama. Pripadaju grupi „katalitičkih“ elemenata koji stimulišu fiziološke procese.

FAKTORI RASTA MIKROORGANIZAMA

Faktori rasta su najčešće **vitamini**, ali mogu da budu i druge materije – purini, pirimidini, esencijalne aminokiseline i dr. Omogućavaju normalno odvijanje procesa metabolizma u ćeliji, jer su djelovi izvjesnih enzimskih sistema. Većina mikroorganizama ih sama sintetiše iz komponenti sredine u kojoj se nalaze. Neki od njih sintetišu i veće količine faktora rasta, npr. vitamina. Međutim, svi mikroorganizmi ih ne sintetišu, pa koriste već postojeće faktore rasta.

Faktori neophodni za normalno funkcionisanje mikrobnih ćelija su: vitamin B1 (tiamin), riboflavin (vitamin B2), piridoksin (vitamin B6), biotin, pantotenska kiselina, nikotinska kiselina (niacin) i nikotinamid, p-aminobenzoeva kiselina (PABK) i glutaminska kiselina, purinske baze (adenin, guanin) i pirimidinske baze (timin, citozin, uracil), X i V faktori i dr.

INHIBITORI RASTA MIKROORGANIZAMA

Neke supstance, čija je molekulska struktura slična jedinjenjima koje mikroorganizmi koriste za svoj metabolizam (metaboliti), mogu da spriječe uključivanje ovih jedinjenja u proces metabolizma. Te supstance su nazvane antagonisti metabolita ili antimetaboliti. Antimetaboliti **inhibiraju funkciju raznih enzima** koji uključuju određene metabolite u proces metabolizma. Antibiotici su, npr. antagonisti raznim enzimskim sistemima mikroorganizama.

KULTIVACIJA – GAJENJE MIKROORGANIZAMA U LABORATORIJSKIM USLOVIMA

Mnogi mikroorganizmi mogu da koriste najrazličitije supstrate u ishrani. Neki mogu da rastu na papiru, drvetu, koži, gumi, kerozinu, nafti. U laboratorijskim uslovima mikroorganizmi se kultivisu na vještačkim hranljivim podlogama. Da bi podloga bila

hranjiva, mora da sadrži sve neophodne hranljive elemente u organskom ili neorganiskom obliku, koji su potrebni za rast određene grupe ili vrste mikroorganizama. Za heterotrofe, podloge moraju da sadrže ekstrakt mesa ili graška, uz dodatak peptona i drugih izvora organskih jedinjenja. Podloge se danas uglavnom proizvode na industrijski način u obliku praškova. Prednost takvih podloga je u njihovoj stabilnosti, jednostavnosti pripreme i pogodnjem transportu. Na podlogama opšte namjene se akumulira biomasa svih mikroorganizama koji se nalaze u ispitivanom materijalu. To su podloge: mesopeptonski agar (hranjivi agar), meso-peptonski bujon, mesopeptonski želatin i dr. **Peptoni** su proteinski hidrolizati (međuproizvodi hidrolize nativnih bjelančevina). Proizvode se od strogo odabranih i očišćenih životinjskih proteina (najčešće goveđeg buta ili srca) enzimskom digestijom (pomoću tripsina, pankreatina, papaina itd.) u kontrolisanim pH uslovima. Peptoni, dakle predstavljaju proizvode nepotpune razgradnje bjelančevina uz pomoć enzima u kisjeloj sredini. Predstavljaju univerzalni izvor azota. **Želatin** je bjelančevina koja se dobija kuvanjem kostiju, kože, tetiva i ligamenata. Dodaje se podlogama u količini od 10–20%. Koristi se uglavnom za otkrivanje proteolizne aktivnosti mikroorganizama. Dodavanjem različitih količina agara dobija se podloga različite čvrstine, a ukoliko se agar uopšte ne dodaje dobije se tečna podloga. Najvažnije karakteristike hranljive podloge su: hranljivost, vlažnost, pH reakcija i sterilnost. Vlažnost podloge se reguliše dodavanjem agara koji podlozi daje čvrstinu. Kisjelost (pH reakcija) podloge podešava se prema zahtjevima mikroorganizama, a obezbjeđuje se samim sastojcima i uz korekciju pomoću baza (najčešće KOH) ili kisjelina (najčešće HCl). Čvrste hranljive podloge se pripremaju od tečnih podloga, uz dodavanje agar-agara, silikatnog gela ili želatina. Najbolje sredstvo za formiranje gela je agar-agar koji se dodaje tečnim podlogama u koncentraciji od 2%, a dobija se od crvenih algi (*Gelidium corneum*). Agar–agar je složeni polisaharid koji stvara gel, s tačkom topljenja 80–100°C i temperaturom stvrdnjavanja oko 40–45°C. Specijalne podloge mogu biti **selektivne i diferencijalne**. Selektivne podloge obezbjeđuju najpovoljnije uslove za gajenje određenih mikroorganizama. U njih se mogu dodavati materije koje selektivno suzbijaju razvoj sporednih mikroorganizama. Diferencijalne podloge se koriste za određivanje vrste ispitivanog mikroorganizma, a zasnivaju se na osobenostima njegovog metabolizma. Sastav tih podloga omogućava da se jasno ispolje najkarakterističnija svojstva izučavanog mikroorganizma.

USVAJANJE HRANLJIVIH MATERIJA KROZ ĆELIJSKU MEMBRANU

Ulazak hranljivih materija nije jednostavno mehaničko kretanje, već složeni fizičko-hemijski proces, u kome veliku ulogu imaju njihova koncentracija, građa, rastvorljivost, veličina molekula, propustljivost ćelijske membrane, enzimi, pH sredine i dr. Mikroorganizmi obavljaju razmjenu materija sa okolnom sredinom **transportom ma-**

lih molekula ili **krupnih molekula** kroz membranu. Ćelijska membrana je selektivno propustljiva, što im omogućava kontrolu razmjene materija i očuvanje stalnog sastava unutrašnje sredine. Hranljive materije ulaze u ćeliju preko čitave površine membrane.

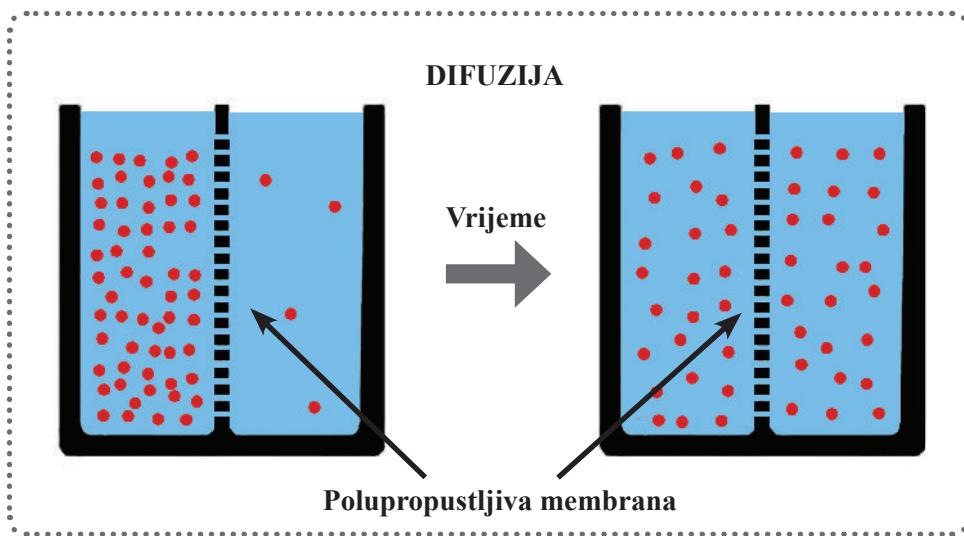
TRANSPORT MALIH MOLEKULA KROZ MEMBRANU

Mali rastvoreni molekuli u ćeliju mikroorganizama prolaze kroz ćelijsku membranu na dva načina: pasivno (pasivni transport) i aktivno (aktivni transport).

Pasivni transport

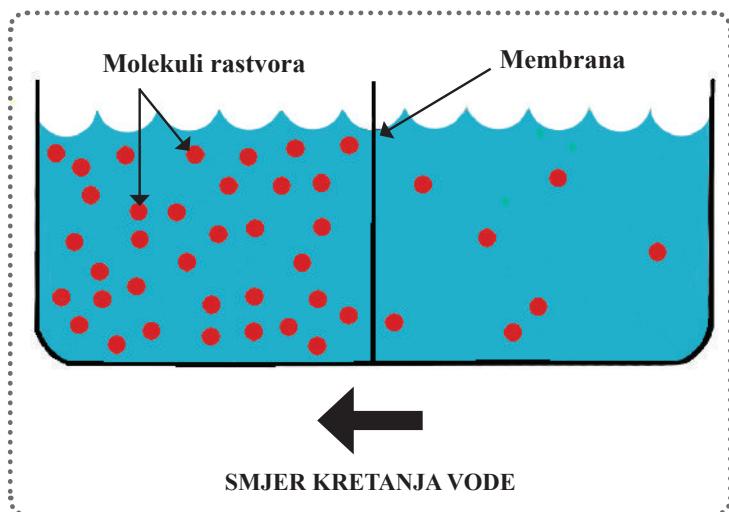
Pri pasivnom transportu rastvorene hranljive materije se kreću kroz membranu zahvjući razlici u koncentraciji sa jedne i druge strane membrane, pri čemu se ne troši energija. Oblici pasivnog transporta su: pasivna difuzija, osmoza i olakšana difuzija.

Pasivna difuzija se odvija kroz citoplazminu membranu sve dok se koncentracije supstanci ne izjednače. Na ovaj način se u ćeliju unose kiseonik i ugljendioksid (slika 146).



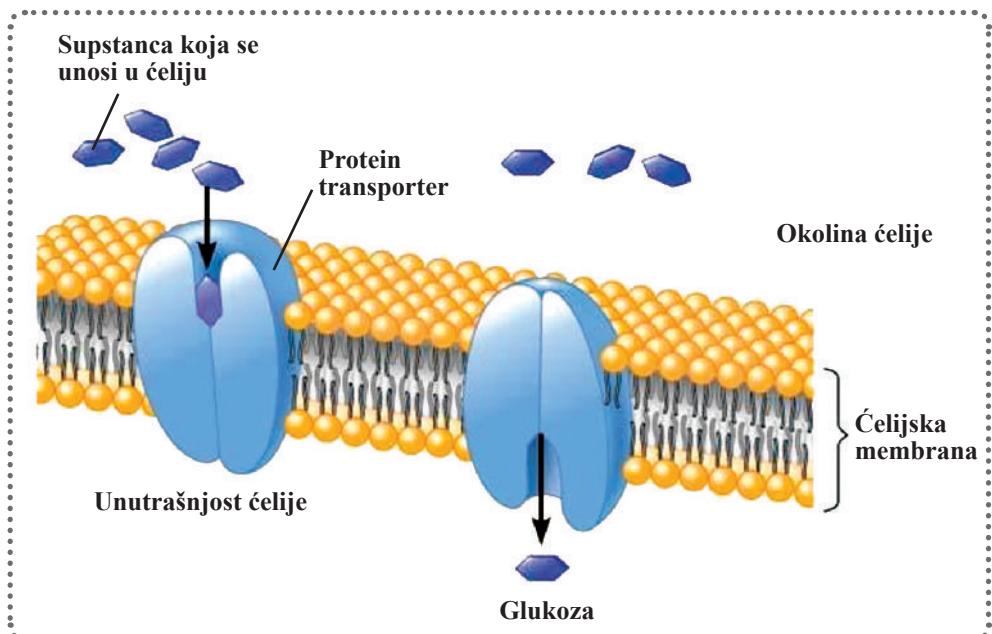
SLIKA 146 – Pasivna difuzija

Osmoza je proces koji podrazumijeva transport vode i odvija se paralelno sa procesom difuzije. Voda u ćeliju ulazi ako je koncentracija supstanci u ćeliji veća nego u spoljnoj sredini (slika 147).



SLIKA 147 – Osmoza

Olakšana difuzija je specifičan oblik difuzije koji se odvija uz pomoć permeaza (proteinskih nosača), bez utroška energije (slika 148).



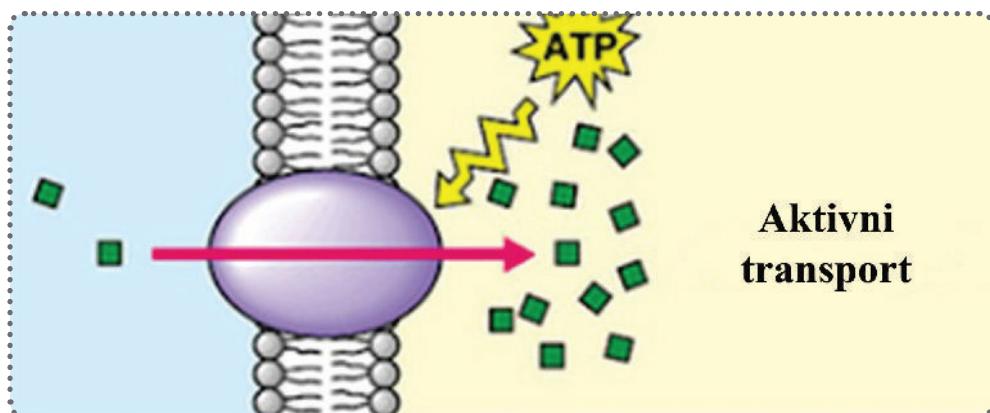
SLIKA 148 – Olakšana difuzija

Permeaze se vezuju sa jedinjenjima na površini citoplazmine membrane obrazujući kompleks koji difunduje kroz membranu na unutrašnju stranu membrane. Nakon toga, permeaza slobodno difunduje na spoljnju stranu citoplazmine membrane i ponovo vezuje novi molekul određenog jedinjenja. Ovaj proces **ne zahtijeva utrošak energije**, s obzirom na to da je koncentracija hranljivih materija veća u spoljnoj sredini. Olakšanom difuzijom se vrši transport molekula koji su nerastvorljivi u mastima, kao što su glukoza, aminokiseline, joni kalijuma, natrijuma, kalcijuma. Na ovaj način ćelija može i da se osloboodi različitih produkata metabolizma.

Aktivni transport

Za brzo odvijanje metabolizma potrebna je velika količina energije. Brzo usvajanje hranljivih materija vrši se putem aktivnog transporta, koji omogućuje ćeliji da akumulira veću koncentraciju hranljivih materija nego što je ona van ćelije.

Aktivni transport predstavlja prenošenje hranljivih materija *u pravcu veće koncentracije*, uz pomoć proteina *nosača* i uz utrošak energije (slika 149). On je moguć zbog hemijske promjene supstance prilikom prolaza kroz citoplazminu membranu. Proces prenosa se vrši tako što se supstanca prethodno fosforiliše (najčešće pomoću fosfoenol pirogroždane kiseline), zatim se veže za proteinske prenosioce i uz pomoć specifičnih enzima prenosi u ćeliju. U ćeliji se vrši njeno odvajanje od prenosioca i defosforilacija. Oslobođeni fosfor se koristi za procese u ćeliji, a hranljiva supstanca se uključuje u metaboličke procese. Na ovaj način većina prokariotskih mikroorganizama usvaja glukozu, fruktozu i dr.

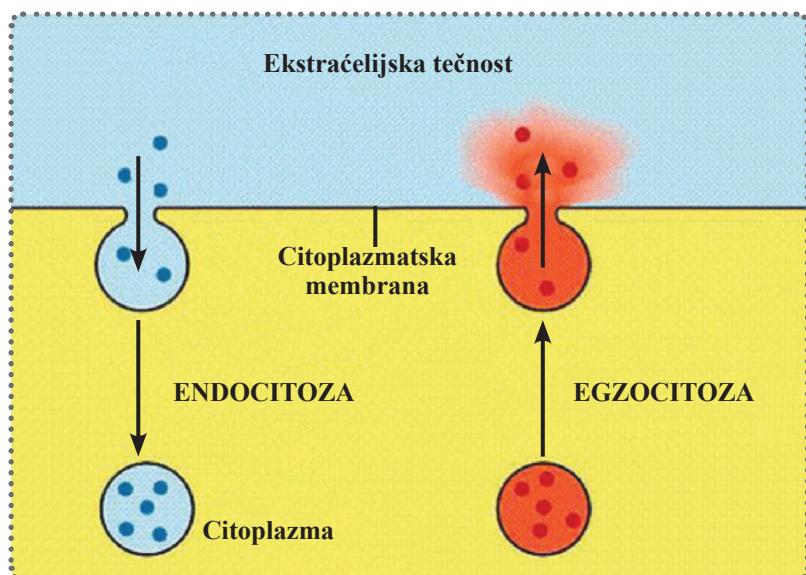


SLIKA 149 – Aktivni transport

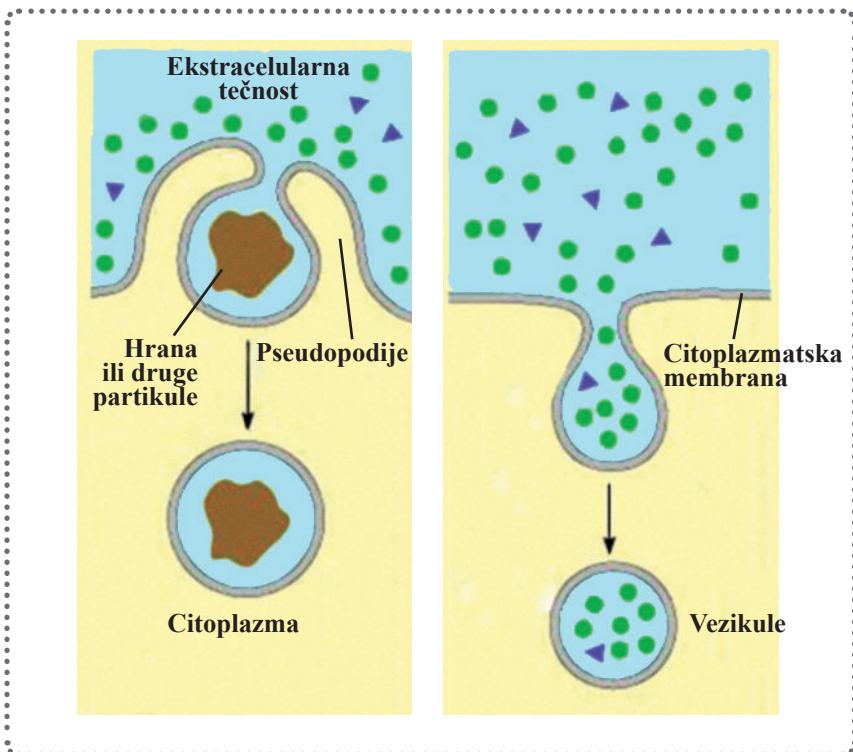
CITOZA

Unošenje i izlučivanje velikih molekula (proteini, polisaharidi) ili cijelih ćelija obavlja se aktivnim učešćem membrane, pri čemu ona obrazuje vezikule. Ti procesi se nazivaju **endocitoza i egzocitoza**. Proces unošenja makromolekula naziva se endocitoza, dok se izbacivanje specifičnih proizvoda ćelije ili nekih drugih materija van ćelije naziva egzocitoza (slika 150).

Pri endocitozi dolazi do stvaranja **udubljenja** na membrani, u koje ulazi materija koja treba da se unese u ćeliju. Udubljenje se sve više spušta u unutrašnjost ćelije, a zatim se ivice membrane spoje i oko unijete materije se obrazuje vezikula. Endocitoza obuhvata dva procesa: **fagocitozu** – unošenje krupnih čestica (grč. *phagein* – jesti) i **pinocitozu** – unošenje vode i manjih rastvorenih molekula (grč. *pino* – piti) (slika 151). Pinocitozom ćelije najčešće uzimaju vodu i druge manje molekule rastvorene u vodi. Skoro sve vrste ćelija unose tečnosti i rastvorene molekule pinocitozom, ali fagocitozu mogu da vrše ćelije samo nekih mikroorganizama. Fagocitoza je zastupljena kod protozoa koje kroz primitivni usni otvor (citostom) uvlače čvrstu hranljivu česticu i oko nje formiraju hranljivu vakuolu. Nakon što se usvojena čestica svari, nepotrebni i neprerađeni sastojci se izbacuju iz ćelije kroz analni otvor – citopig.



SLIKA 150 – Endocitoza i fagocitoza



SLIKA 151 – Fagocitoza i pinocitoza

Razmjenom materija sa spoljašnjom sredinom mikroorganizmi doprinose kruženju azota, ugljenika, sumpora, fosfora i drugih materija, a time i održanju biološke ravnoteže u prirodi.

METABOLIZAM MIKROORGANIZAMA

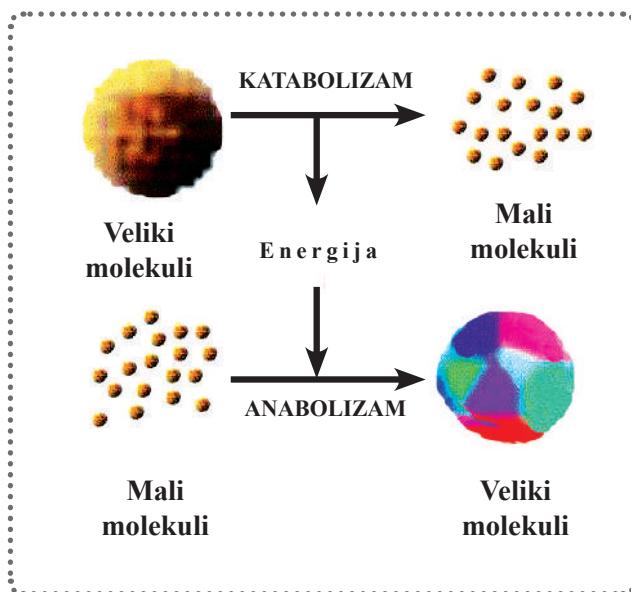
Promet materije i za materiju vezane energije predstavlja jednu od najbitnijih karakteristika života. U ćeliji se neprekidno odvijaju tijesno povezani procesi razlaganja organske materije, uz oslobađanje energije i biosinteza složenih sastojaka ćelije, uz utrošak energije.

Pod metabolizmom mikroorganizama, kao i drugih organizama, podrazumijeva se skup svih biohemičkih reakcija koje se odvijaju u ćeliji.

Katabolizam je dio metabolizma u kome se vrši razgradnja hranljivih materija, ugljenih hidrata, masti i bjelančevina, na račun reakcija oksidacije, pri čemu se izdvaja energija.

Anabolizam je dio metabolizma u kome se vrši sinteza kompleksnih jedinjenja iz prostijih, uz utrošak energije. Oni se odvijaju istovremeno i uzajamno su povezani (slika 152).

Hemiske reakcije koje se odvijaju u ćeliji su različite i vrlo složene. Mogu se podjeliti u nekoliko osnovnih grupa: **hidroliza** (razlaganje, reakcija u kojoj se hemijske supstance razlažu uz učešće vode), **biosinteza** (sjedinjavanje prostijih hemijskih jedinjenja u složenije molekule, uz korišćenje energije), **reakcije prenosa** (kod kojih se vrši prenos grupe atoma sa jednog molekula (donor) na drugi molekul (akceptor)), **biološka oksidoredukcija** (označava prenos elektrona sa jednog atoma na drugi). **Reakciju oksidacije** uslovjava prisustvo redukcionog sredstva, pa su ove dvije reakcije neraskidivo vezane. Obje uključuju razmjenu istog broja elektrona. Kada jedan atom gubi elektron, neki drugi ga mora primiti. Atom koji gubi elektron oksidiše se, a atom koji prima elektron se redukuje. Biološka oksidacija se može definisati kao: sjedinjavanje sa kiseonikom, odvajanje vodonika (dehidrogenacija) ili odvajanje elektrona iz molekula.



SLIKA 152 – Katabolizam i anabolizam

ENZIMI MIKROORGANIZAMA

Enzimi su **biološki katalizatori** biohemijskih reakcija, što znači da ubrzavaju njihovo odvijanje. Da bi se određena hemijska reakcija izvršila izvan organizma, neophodna je visoka temperatura ili jaki hemijski agensi kao energija aktivacije, koji inače izazivaju smrt ćelije. Zbog toga ćelije imaju sposobnost da pod kontrolom nasljedne osnove same stvaraju specifične katalizatore – enzime, koji svoje katalitičko dejstvo ispoljavaju na taj način, što smanjuju energiju aktivacije i djeluju u uslovima niske temperature organizma. Zato su biološki katalizatori nazvani „aktivatorima i ključevima života“. Pojava i evolucija biokatalize su imali presudni značaj za postanak metabolizma.

Enzimi su po strukturi **proteini**. Djeluju u malim količinama, a iz reakcije izlaze ne-promijenjeni. Visoko su specifični. Neki enzimi se sastoje od jednog makromolekula proteina. Kod drugih, aktivnost je uslovljena postojanjem drugih manjih organskih, neproteinskih molekula, uz molekule proteina, koji se zovu **koenzimi**. Ukoliko su ovi mali molekuli jače vezani za proteinski dio enzima, zovu se **prostetične grupe**. Koenzimi i prostetične grupe su po svojoj strukturi veoma različiti i mogu biti: nukleotidi, vitamini, metali. Koenzimi djeluju kao davaoci ili primaoci atoma vodonika, elektrona i drugih grupa. Kada enzim sadrži koenzim ili prostetičnu grupu, tada se proteinski dio naziva **apoenzim**, a kombinacija apoenzima sa koenzimom predstavlja **holoenzim** ili aktivni enzim, jer je apoenzim bez koenzima ili prostetične grupe neaktivran. Koenzim određuje tip reakcije koja se katalizuje, dok proteinski dio uslovjava specifičnost prema supstratu. Tako, NAD koenzim, primajući i otpuštajući protone i elektrone, učestvuje u oksidacijama.

Zavisno od proteinskog dijela, on može da učestvuje u oksidaciji različitih supstrata. To znači da isti koenzim može da bude sastavni dio više enzima. Broj koenzima nije veliki, ali jedan koenzim može da se sjedini sa više apoenzima. Poznato je oko 30 koenzima različite hemijske građe koji se mogu svrstati u dvije osnovne grupe: vitaminski i nevitaminski koenzimi. Mnogi koenzimi su vitamini ili u svom sastavu sadrže vitamine. Najznačajniji koenzimi – prenosiocci vodonika koji u svom sastavu sadrže vitamine su: NAD (nikotinamid adenin dinukleotid), NADP (nikotinamid adenin dinukleotid fosfat), FAD (flavin adenin dinukleotid), FMN (flavin mononukleotid) i koenzim A, kome pripada značajna uloga u metaboličkim procesima ćelije.

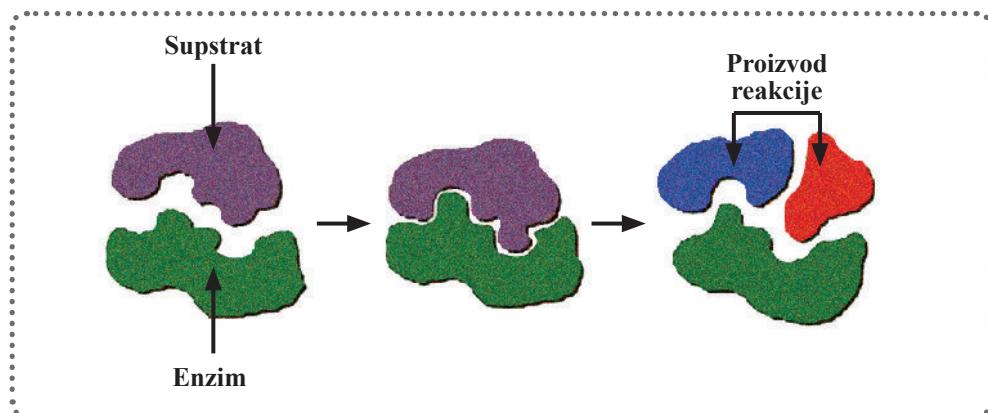
Svi enzimi se sintetišu u ćelijama, a prema mjestu dejstva mogu se podijeliti u dvije grupe: **egzo i endocelularne enzime**. Egzocelularni enzimi se izlučuju iz ćelija, dok endocelularni djeluju u ćelijama gdje su sintetisani. Neki od ovih enzima su locirani i funkcionišu u specijalnim ćelijskim organelama, kao što su: mitohondrije, hloroplasti, lizozomi, dok su drugi slobodni u matriksu ćelije. Molekuli enzima su vrlo osjetljivi na uslove sredine u kojoj djeluju, a koji mogu da mijenjaju njegovu strukturu. Na katalitičku aktivnost enzima utiču: koncentracija enzima i supstrata, temperatura, koncentracija jona vodonika, aktivatori enzima, inhibitori enzima i dr. Aktivnost enzima potpuno

prestaje ako pH sredine odstupa samo za dvije pH jedinice niže ili više od optimalne. Neki enzimi se sintetišu u ćeliji u inaktivnoj formi, zvanoj **zimogen ili proenzim**. Ovo je prirodni način zaštite ćelije od autolize. Da bi se transformisao u aktivan enzim, proenzim zahtijeva prisustvo aktivatora.

Enzimi efikasno djeluju u vrlo malim koncentracijama, u reakcijama se ne mijenjaju i ne postaju dio krajnjeg produkta reakcije. Takođe se odlikuju specifičnošću za supstrat. Ta se specifičnost bazira na komplementarnosti prostorne strukture **aktivnog centra** molekula enzima i supstrata na koji enzim djeluje. Ukoliko konfiguracija supstrata odgovara konfiguraciji enzima, kao „ključ i brava“, tada može doći do njihovog povezivanja u kompleks enzim-supstrat i hemijske reakcije. Molekul enzima se ne spaja sa supstratom cijelom površinom, već samo jednim svojim dijelom koji se zove aktivni centar, čija struktura odgovara konfiguraciji određenog dijela supstrata. Reagujući sa supstratom, enzim daje aktivirani supstrat-enzim kompleks (slika 153). Poslije razlaganja kompleksa, enzim se regeneriše i sposoban je ponovo za reakciju.

Prema reakcijama koje katalizuju, enzimi se mogu podijeliti u šest grupa i to:

- **oksidoreduktaze** – katalizuju reakcije oksidacije i redukcije,
- **transferaze** – regulišu prenošenje pojedinih grupa,
- **lijaze** – katalizuju kidanje različitih hemijskih veza bez prisustva vode,
- **izomeraze** – katalizuju pretvaranje jednog organskog molekula u odgovarajući izomer,
- **hidrolaze** – katalizuju reakcije hidrolize,
- **ligaze** (sintetaze) – katalizuju sintezu organskih jedinjenja.



SLIKA 153 – Mehanizam dejstva enzima

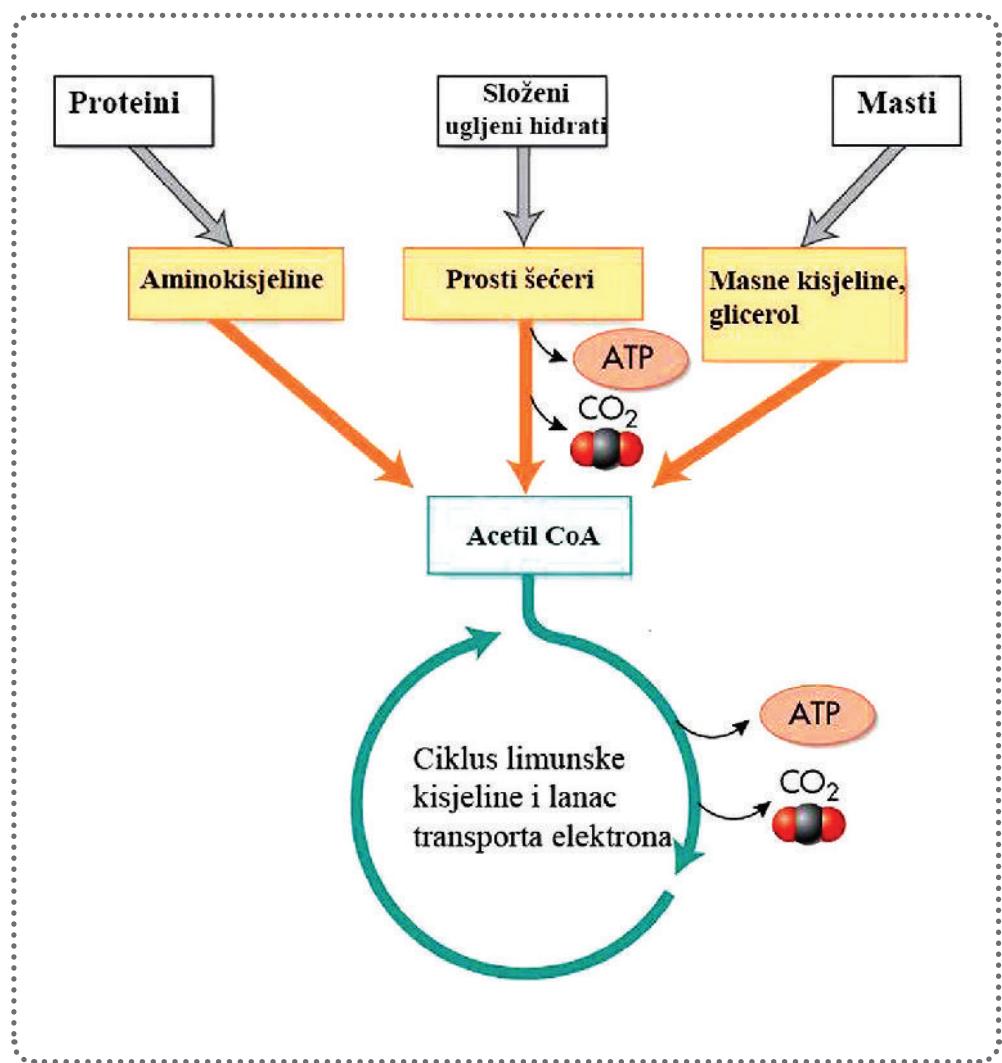
Slično enzimima, vitamini su aktivni u malim koncentracijama. To su organske supstance različite po svom hemijskom sastavu. Većina vitamina funkcioniše u sastavu koenzima ili kao prostetična grupa enzima. Zbog toga su vitamini neophodni za hemijske procese u svim živim ćelijama i njihov nedostatak izaziva ozbiljne metaboličke poremećaje. Neki mikroorganizmi su sposobni da sami proizvode ove supstance. Mikroorganizmima koji ih ne sintetišu treba u hranljivu podlogu dodavati vitamine da bi se mogli razvijati. Od njih su najznačajniji: vitamin B12, biotin, folna kiselina, nikotinska kiselina (nikotinamid), pantotenska kiselina, riboflavin, tiamin i dr.

KATABOLIZAM

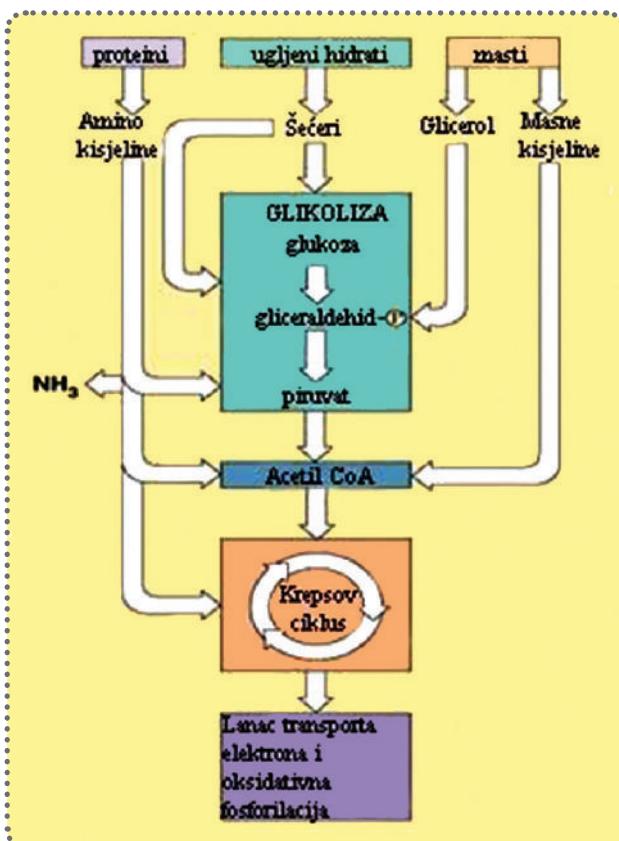
Katabolizam je dio metabolizma u kome se vrši razgradnja hranljivih materija, ugljenih hidrata, masti i bjelančevina, na račun reakcija oksidacije, pri čemu se izdvaja energija.

Energija i ugljenik (najzastupljeniji hemijski element u ćeliji) su neizostavni uslovi opstanka mikroorganizama i organizama uopšte. Mikroorganizmi su se u toku svog razvoja osposobili da za svoje potrebe koriste različite izvore energije i ugljenika. Izvori energije za mikroorganizme mogu biti sunčeva svjetlost, neorganska, kao i organska jedinjenja. Dakle, mikroorganizmi energiju dobijaju oksidacijom organskih jedinjenja, oksidacijom neorganskih jedinjenja i u procesu fotosinteze. Materije koje mikroorganizmi oksidišu i koriste kao izvor energije su donori elektrona i vodonika. Ako se koriste i kao izvori hranljivih elemenata, to su ujedno i supstrati. Elektroni se prenose na akceptore koji kod mikroorganizama mogu biti različiti. Ako je krajnji primalac (akceptor) vodonika, odnosno elektrona molekularni kiseonik, tada se taj metabolički proces naziva **aerobna respiracija ili aerobno disanje**. U procesu disanja, elektroni se od donora do akceptora prenose preko enzima lanca disanja (flavin dehidrogenaze, citohromi i ubihinon). Ako su krajnji akceptor vodonika nitrati, sulfati i karbonati (oksidisana neorganska jedinjenja), taj se proces zove **anaerobna respiracija, ili anaerobno disanje**. Ako je krajnji primalac vodonika neko organsko jedinjenje, taj se proces zove **fermentacija**. Koji molekul će biti krajnji akceptor elektrona, odnosno vodonika, zavisi od vrste mikroorganizma, tj. od njegovog enzimskog sistema, kao i uslova sredine (aerobna ili anaerobna sredina).

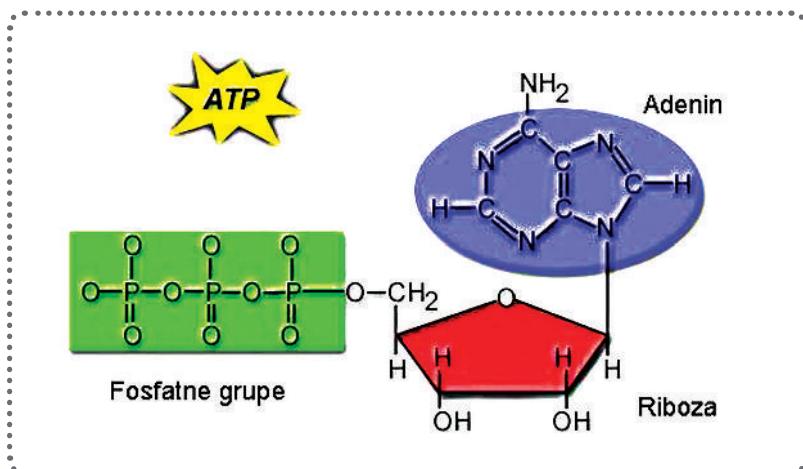
Energija koja se oslobađa u toku katabolizma (slike 154a i 154b) akumulira se u jedinjenja bogata energijom: adenozin trifosfat (ATP), koenzim A (CoA), guanozin trifosfat (GTP), uridin trifosfat (UDP) i dr. Adenozin trifosfat je makromolekul, koji je u ćeliji najpristupačniji izvor energije (slika 155). Energija ATP je uskladištena u visoko energetskim vezama između drugog i trećeg fosfata. Oslobođena energija se koristi za biosinteze i druge potrebe ćelije.



SLIKA 154a – Katabolizam organskih jedinjenja



SLIKA 154b – Katabolizam organskih jedinjenja



SLIKA 155 – Molekul ATP-a

ENZIMI LANCA DISANJA

Enzimi koji čine lanac disanja kod mikroorganizama su flavin dehidrogenaze (flavoproteini), citohromi i ubihinon. Svi enzimi lanca disanja imaju sposobnost da se reverzibilno redukuju.

Flavin dehidrogenaze sadrže čvrsto vezan flavin mononukleotid (FMN) ili flavin adenin dinukleotid (FAD). FMN i FAD sadrže u svojoj strukturi riboflavin (vitamin B₂), koji je sposoban da se reverzibilno redukuje. Postoji veliki broj drugih flavin dehidrogenaza koje katalizuju specifične oksidoredukcione reakcije transporta elektrona. **Citohromi** su proteini koji sadrže porfirinsko gvožđe. U toku svoje katalitičke aktivnosti, svi citohromi reverzibilno mijenjaju valencu gvožđa. Učestvuju u prenošenju elektrona od različitih dehidrogenaza do molekulskog kiseonika. **Ubihinon** (ubikinon, koenzim Q) takođe prenosi elektrone od organskih supstanci do molekulskog kiseonika. Derivat je dimetoksibenzohinon sa izoprenskim lancem. Rastvorljiv je u mastima. Ima sposobnost da se reverzibilno redukuje. Ubihinon je dobio naziv po širokoj rasprostranjenosti (ubikvitarnosti) kod mikroorganizama, biljaka i životinja.

RAZLAGANJE UGLJENIH HIDRATA

Najveći broj mikroorganizama kao supstrat koriste ugljene hidrate – polisaharide i monosaharide. **Polisaharidi** (celuloza, skrob, glikogen i dr.) su građeni od velikog broja molekula monosaharida. Ovi krupni molekuli ne mogu da uđu u ćeliju mikroorganizama. Zato mikroorganizmi u spoljnu sredinu oslobađaju enzime koji vrše njihovu razgradnju na gradivne jedinice. Najčešća gradivna jedinica polisaharida je **glukoza**.

Celuloza je građena od 8000–12000 molekula glukoze koji su međusobno povezani β 1–4 glukozidnim vezama. Mikroorganizmi u spoljnu sredinu izlučuju tri egzoenzima – **celulaze** kojima razgrađuju celulozu: endoglukanaza hidrolizuje unutrašnje glikozidne veze lanca celuloze, egzoglukanaza odvaja po dva molekula glukoze – celobiozu sa krajeva celulognog lanca, dok β glukozidaza hidrolizuje celobiozu.

Skrob se sastoji iz amiloze i amilopektina. Amiloza je izgrađena iz nerazgranatih lanaca molekula glukoze povezanih α 1–4 glukozidnim vezama. Amilopektin ima razgranate lance građene od molekula glukoze povezanih međusobno α 1–4 i α 1–6 glukozidnim vezama. Mikroorganizmi u svoju okolinu izlučuju enzim **amilazu** kojim razgrađuju skrob. Kao proizvod razgradnje nastaje maltoza (disaharid izgrađen od dvije jedinice glukoze spojene α 1–4 vezom), veliki broj molekula glukoze i neki oligomeri sa 6–7 molekula glukoze. Glukoza se unosi u ćeliju, gdje se podvrgava procesima razgradnje, čiji je krajnji rezultat dobijanje energije i jedinjenja koje ćelija koristi u biosinteza.

Mikrobiološko razlaganje glukoze odvija se u dvije faze. Prva faza – **glikoliza** obuhvata transformaciju glukoze do pirogroždane kisjeline. U drugoj fazi se pirogrožđana

kiselina uključuje u ciklus trikarbonskih kiselina (Krepsov ciklus) ili u procese aerobnih i anaerobnih fermentacija ili biosinteze.

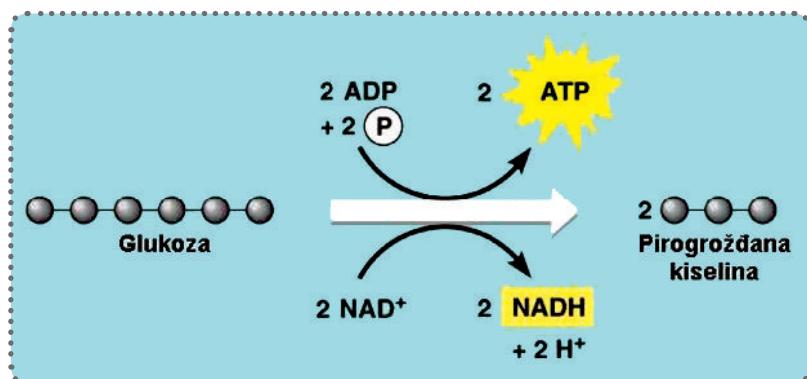
GLIKOLIZA

Prva faza razlaganja glukoze do pirogrožđane kiseline se zove glikoliza (slika 156), koja se kod mikroorganizama može odvijati na tri načina: Embden Mayerhof Parnas-ov put (EMP), pentoza-fosfatni put (PF) i Entner Doudorof (ED) put (slika 157). Kod sva tri načina glukoza se prvo fosforiliše pomoću ATP-a i prelazi u **glukoza-6-fosfat**. Ovo je aktivna forma glukoze koja se uključuje u jedan od puteva razlaganja.

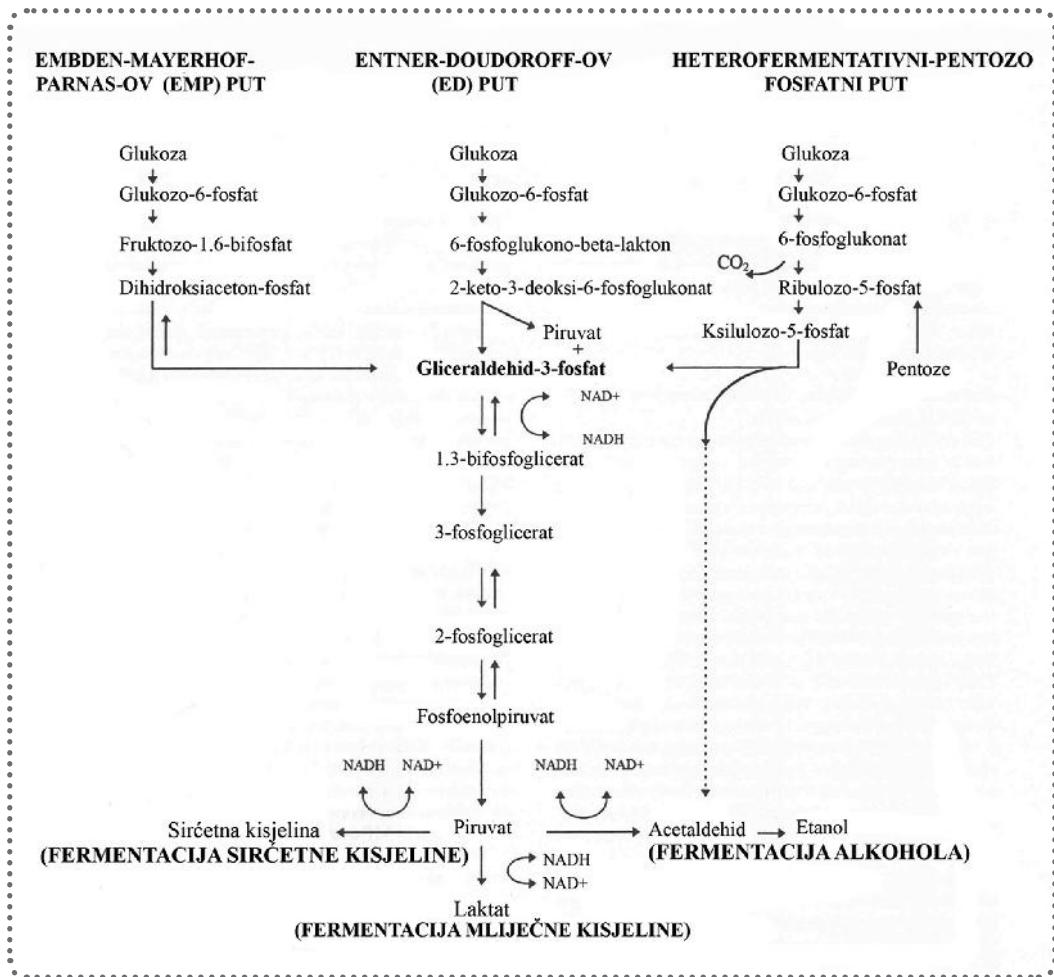
Emden Mayerhof Parnas-ov put (EMP) je način razlaganja glukoze koji je za-stupljen kod većine mikroorganizama. Proces protiče preko većeg broja prelaznih proizvoda da bi se na kraju dobila pirogrožđana kiselina, NADH_2 i ATP.

Pentozo-fosfatni put razgradnje glukoze počinje oksidacijom 3 molekula glukozo 6 fosfata do 3 molekula 6 fosfoglukonske kiseljine, 6 fosfoglukonska kiselina se ok-sidiše i dekarboksiliše, pri čemu nastaju 3 molekula ribulozo 5 fosfata, 3 NADPH i 3CO_2 . Od ribulozo 5 fosfata nastaju pentozo fosfati (ribozo 5 fosfat, ksilozo 5 fosfat, ksilulozo 5 fosfat), eritrozo 4 fosfat, gliceraldehid 3 fosfat, fruktozo 6 fosfat, pirogrožđana kiselina itd.

Kod **Entner Doudoroff (ED) puta**, kao krajnji bilans, iz jednog molekula glukoze nastaju 2 molekula pirogrožđane kiseljine, jedan ATP, jedan NADPH i jedan NADH.



SLIKA 156 – Glikoliza (GMP put)



SLIKA 157 – Tri načina – puta glikolize

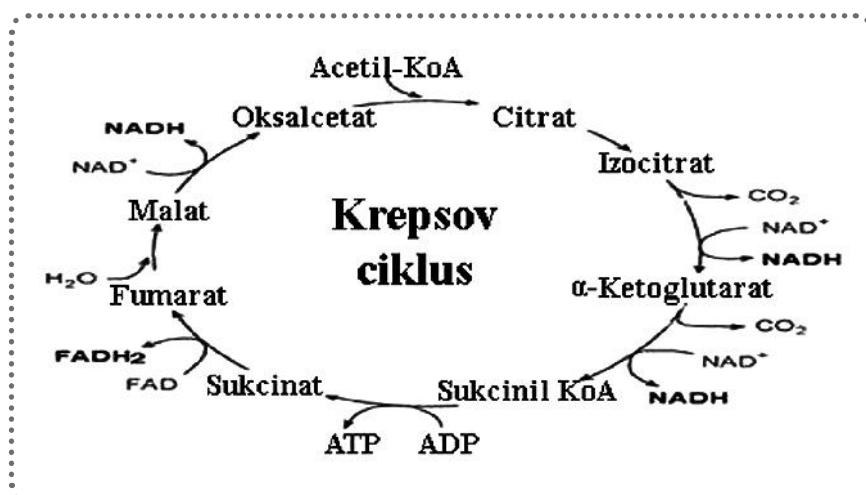
DRUGA FAZA RAZGRADNJE GLUKOZE

U drugoj fazi se razgrađuje pirogrožđana kisjelina nastala u procesu glikolize. Ona se može uključiti u procese **respiracije** (u prisustvu kiseonika kao akceptora elektrona) ili **fermentacije** (ako je akceptor elektrona organska materija), u zavisnosti od uslova sredine i prisustva enzima.

AEROBNO DISANJE (RESPIRACIJA)

Većina aerobnih mikroorganizama energiju dobija u ciklusu trikarbonskih kisjelina u kome pirogrožđana kisjelina potpuno oksidiše do CO_2 i vodonika koji se u lancu disanja veže za kiseonik i daje vodu. Ako se oksidacija pirogrožđane kiseline izvrši do kraja, tj. do CO_2 i vodonika, takav tip disanja zove se **potpuna biološka oksidacija** (Krepsov ciklus, ciklus trikarbonskih kisjelina, lanac disanja, oksidativna fosforilacija, slika 158). CoA (koenzim A) je jedinjenje koje uvodi ugljenik iz pirogrožđane kiseline u Krepsov ciklus, pri čemu prelazi u acetil-CoA. Vodonik koji se u toku razlaganja glukoze, ciklusa trikarbonskih kisjelina i aerobnih fermentacija, vezao za NAD^+ i FAD^+ prenosi se na lanac disanja – niz enzima koji prenose vodonik i elektrone od supstrata na akceptor. Kod eukariotskih mikroorganizama lanac disanja je smješten u mitohondrijama, a kod prokariotskih u citoplazminoj membrani. Kiseonik, nakon što primi elektron, prelazi u anjon i reaguje sa protonom vodonika, pri čemu nastaje voda. Prilikom prenošenja vodonika i elektrona osloboda se energija. Oslobođena energija se akumulira u ATP, a proces se zove oksidativna fosforilacija. Potpunom oksidacijom glukoze do CO_2 i H_2O oslobodi se 38 ATP.

Mikroorganizmi sa kraćim lancem disanja dobijaju manje energije, što je obično slučaj sa bakterijama i gljivama koji respiraciju vrše putem aerobnih fermentacija.



SLIKA 158 – Krepsov ciklus

FERMENTACIJE (VRENJA)

Fermentacije predstavljaju razgradnju organskih materija od strane mikroorganizama **u anaerobnim uslovima**. Predstavljaju nepotpune oksidoredukcije ugljenih hidrata i drugih organskih jedinjenja. Ovaj proces je otkrio francuski naučnik Luj Paster 1861. g. On je zapisao: „Fermentacija je život bez vazduha“. U procesu fermentacije krajnji akceptor vodonika je **molekul organske materije sa nezasićenim vezama**. Materija se pri tome razlaže samo do intermedijarnih proizvoda – složenih organskih jedinjenja (alkoholi, organske kisjeline). Mikroorganizmi koji vrše fermentaciju nisu sposobni dalje da koriste proizvode fermentacija kao izvor energije. Ni svi aerobni mikroorganizmi ne dovode reakcije oksidacije do kraja; **uslijed viška ugljenih hidrata u hranljivoj sredini**, stvaraju se proizvodi nepotpune oksidacije u kojima je zarobljena energija.

AEROBNE FERMENTACIJE

Neki mikroorganizmi i u aerobnim uslovima stvaraju kao krajnje proizvode izvjesna složena organska jedinjenja, jer imaju **kraći lanac** enzima disanja ili su im hranljive materije na raspolaganju **u suvišku**. Oni mogu da vrše nepotpunu oksidaciju glukoze tako da se kao krajnji proizvod dobijaju neke **organske kisjeline** i različit broj molekula CO_2 , NADH i FADH_2 . Ovakve respiracije nazvane su aerobne fermentacije. Najčešće se javljaju: sirćetna, limunsko-oksalna, fumarno-ćilibarna fermentacija.

Sirćetna fermentacija

Glukoza se razlaže do pirogrođane kisjeline, koja se zatim dekarboksiliše do acetaldehida, a oksidacijom acetaldehida nastaje sirćetna kiselina. Pored glukoze, supstrat može biti i etilalkohol koji se oksidiše do acetaldehida, a ovaj dalje do sirćetne kiseline. Bakterije sirćetne fermentacije (*Acetobacter*) se koriste za dobijanje sirćetne kiseline iz vina.

Fumarno-ćilibarna fermentacija

Kao krajnji proizvod respiracije gljiva iz roda *Mucor*, *Rhizopus* i dr., iz glukoze nastaju fumarna, ćilibarna i jabučna kiselina. Pirogrođana kiselina nastala iz glukoze uključuje se u ciklus trikarbonskih kiselin.

Limunska fermentacija

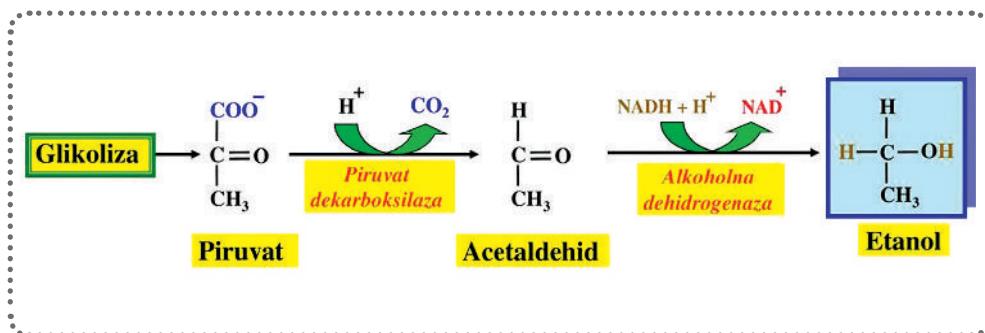
U procesu respiracije nekih gljiva, među kojima je najpoznatija *Aspergillus niger*, iz glukoze nastaje limunska kiselina, pa se koristi u proizvodnji limunske kiseline. Pirogrođana kiselina se oksidiše uz pomoć NAD^+ , dekarboksiliše i sjedinjuje sa CoA , pri čemu nastaje acetil- CoA . Međusobnom reakcijom acetil- CoA i oksalsirćetne kiseline nastaje limunska kiselina.

ANAEROBNE FERMENTACIJE

Anaerobne fermentacije su dio katabolizma u kome mikroorganizmi dobijaju energiju u uslovima **bez prisustva slobodnog kiseonika**. Energija koju dobiju ovi mikroorganizmi je ona koja se oslobodi u toku supstratne fosforilacije i ona iznosi 2 ATP. Kao i kod aerobnih, prva faza anaerobnih fermentacija je razlaganje glukoze do pirogrožđane kiseline. Vodonik koji se pritom izdvojio i vezao za NADH⁺ prenosi se na neko organsko jedinjenje tipa **aldehida ili ketona**, što predstavlja drugu fazu anaerobnih fermentacija. Prema krajnjim proizvodima koji nastaju u većim količinama, anaerobne fermentacije su dobine imena. Najpoznatije su: alkoholna, mlijecna, buterna, propionska, mješovita fermentacija.

Alkoholna fermentacija

Kod većine mikroorganizama, prva faza alkoholne fermentacije do pirogrožđane kiseline odvija se po EMP putu razlaganja glukoze. U drugoj fazi vrši se dekarboksilacija pirogrožđane kiseline, pri čemu nastaje acetaldehid i CO₂. Acetaldehid predstavlja krajnji akceptor vodonika koji se izdvojio u EMP putu i vezao za NAD⁺. Primanjem ovog vodonika (redukcijom), acetaldehid prelazi u **etil alkohol** (slika 159). Mikroorganizmi koji energiju dobijaju po tipu alkoholne fermentacije su kvasci, neke pljesni (končaste gljive) i bakterije. Najaktivniji proizvođači etil alkohola su kvasci iz rodova *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Torula* i dr. U aerobnim uslovima kvasci prelaze na aerobnu respiraciju, uslijed čega se smanjuje ili se potpuno obustavlja proizvodnja etil alkohola. Zahvaljujući tome što u toku svog katabolizma glukozu transformišu u etil alkohol, kvasci su našli široku primjenu. U proizvodnji vina koriste se kvasci *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces paradoxus*, *Saccharomyces ellipsoideus*, *Schizosaccharomyces pombe* i dr, u proizvodnji kefira *Candida kefir* (raniji naziv *Torula kefir*), kumisa *Torula koumiss* (raniji naziv *Torula lactis*). Osim za dobijanje etil alkohola, kao glavnog proizvoda razlaganja glukoze, kvasci se koriste i zbog sposobnosti izdvajanja CO₂ kao sporednog proizvoda. Tako se *Saccharomyces cerevisiae* koristi u pekarstvu jer CO₂ stvara rupice u tjestu, dok alkohol u toku pečenja ispari. Bakterije koje vrše alkoholnu fermentaciju su *Zymomonas mobilis* i *Leuconostoc mesenteroides*. Od končastih gljiva alkoholnu fermentaciju mogu da vrše *Mucor*, *Rhizopus* i *Aspergillus*.

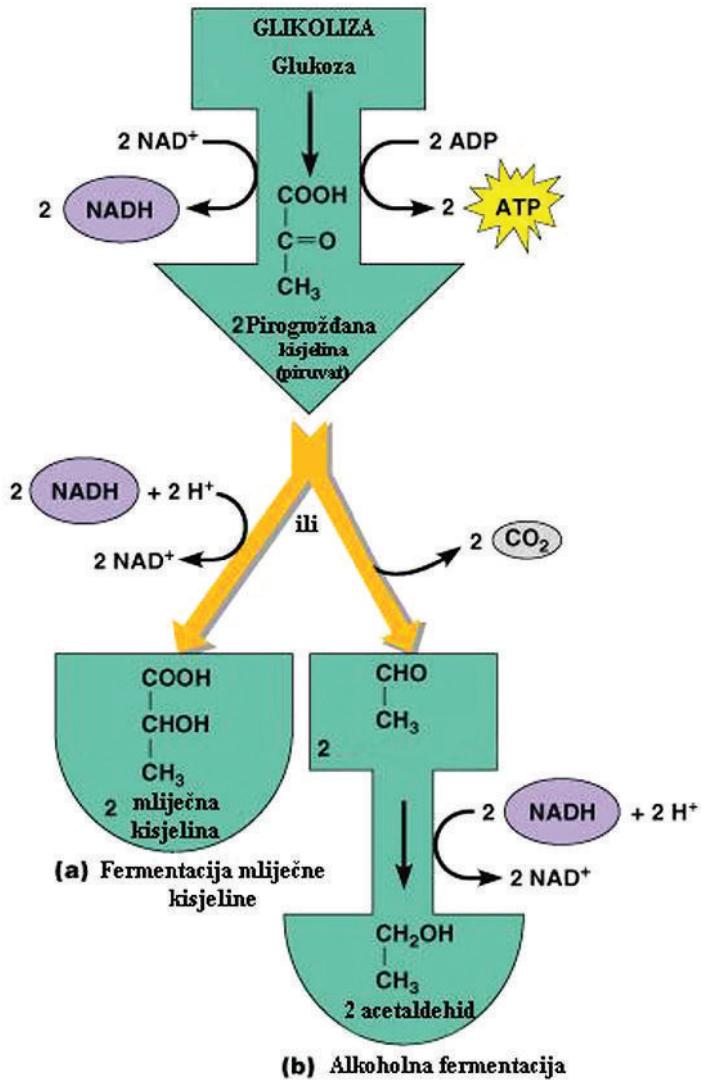


SLIKA 159 – Alkoholna fermentacija

(<https://slideplayer.es/slide/14155641>)

Mliječno-kisjelinska fermentacija

Glavni proizvod razlaganja glukoze po tipu mliječno-kisjelinske fermentacije je **mliječna kiselina**. Razlaganje glukoze do pirogroždane kiseline odvija se po EMP putu. **Homofermentativni tip** mliječne fermentacije je fermentacija u kojoj se iz glukoze dobije samo mliječna kiselina. Pirogroždana kiselina se redukuje pomoću NADH_2 i prelazi u mliječnu kiselino (slika 160). Glukuzu po ovom tipu mliječne fermentacije razlažu kokoidne i štapićaste bakterije mliječne kiseline. Najznačajniji predstavnici kokoidnih bakterija mliječne kiseline su: *Lactococcus lactis*, *Lactococcus cremoris*, *Lactococcus diacetilactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Pediococcus cerevisiae*. Najznačajnije štapićaste bakterije mliječne kiseline su: *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*. Mikroorganizmi koji glukuzu razlažu po ovom tipu, primjenjuju se u mljekarstvu za proizvodnju kisjelih napitaka od mlijeka, maslaca i sira. **U heterofermentativnom tipu** mliječne fermentacije, po red mliječne kiseline, nastaju još i etil alkohol, sirčetna kiselina i ugljendioksid. Najznačajnije heterofermentativne bakterije mliječne fermentacije su: *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc dextranicum*, *Lactobacillus brevis*, *Bifidobacterium bifidum*. Ovi mikroorganizmi su značajni u proizvodnji silaže i ukisjeljavanju povrća pošto se nalaze na nadzemnim djelovima biljaka. Žive u zemljištu, gdje takođe koriste glukuzu kao izvor energije.



SLIKA 160 – Anaerobne fermentacije – mlijječna i alkoholna

Propionska fermentacija

Propionska fermentacija je put za dobijanje energije za bakterije iz roda *Propionibacterium*. Pirogrožđana kisjelina, preko oksalsirćetne i cílibarne, uz učešće metilmalonil CoA, prelazi **u propionsku kisjelinu**. Bakterija propionske fermentacije *Propionibacterium shermanii* koristi se u proizvodnji tvrdih sireva. Na taj način daje karakterističan ukus i miris, a CO₂ stvara rupice.

Buterna fermentacija

Nakon razgradnje glukoze do pirogrožđane kisjeline, pirogrožđana kisjelina se uz pomoć velikog broja mikrobioloških enzima transformiše **u buternu kisjelinu i CO₂**. Razgradnju šećera po tipu buterne fermentacije vrše bakterije iz roda *Clostridium*. One su značajne za zemljiste jer u dubljim slojevima omogućuju transformaciju organske materije i stvaranje biljnih asimilativa. Neke vrste buternih bakterija su štetne, jer, pored buterne kisjeline, proizvode i različite toksine i izazivaju oboljenja ljudi i životinja. Najpoznatije patogene vrste bakterija buterne kisjeline su: *Clostridium botulinum* (koji stvara veoma jak egzotoksin i uzrokuje opasno oboljenje botulizam), *Clostridium tetani* (koji uzrokuje tetanus) i *Clostridium perfringens* (koji proizvodi pet različitih egzotoksina). Ako se *Clostridium perfringens* nađe u stočnoj hrani, mlijeku, mesu ili na ljusci jaja, može lako dospjeti i u organe za varenje ljudi i životinja. Oslobođeni egzotoksi uzrokuju maligni edem kod krupnih životinja, enterotoksemiju kod jagnjadi, a kod ljudi povraćanje, bolove u stomaku i sl.

Mješovita fermentacija

Mikroorganizmi iz rodova: *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Serratia* i *Erwinia* transformišu glukozu **u niz različitih proizvoda**, kao što su: sirćetna, mliječna, cílibarna i mravlja kisjelina, etil alkohol, ugljendioksid i vodonik. Ovi mikroorganizmi nisu striktni anaerobi, često kontaminiraju stočnu hranu, meso, mlijeko i vodu. Pored proizvoda fermentacije glukoze, oni proizvode i različite endo i egzotoksine i uzrokuju oboljenja organa za varenje.

ANAEROBNO DISANJE

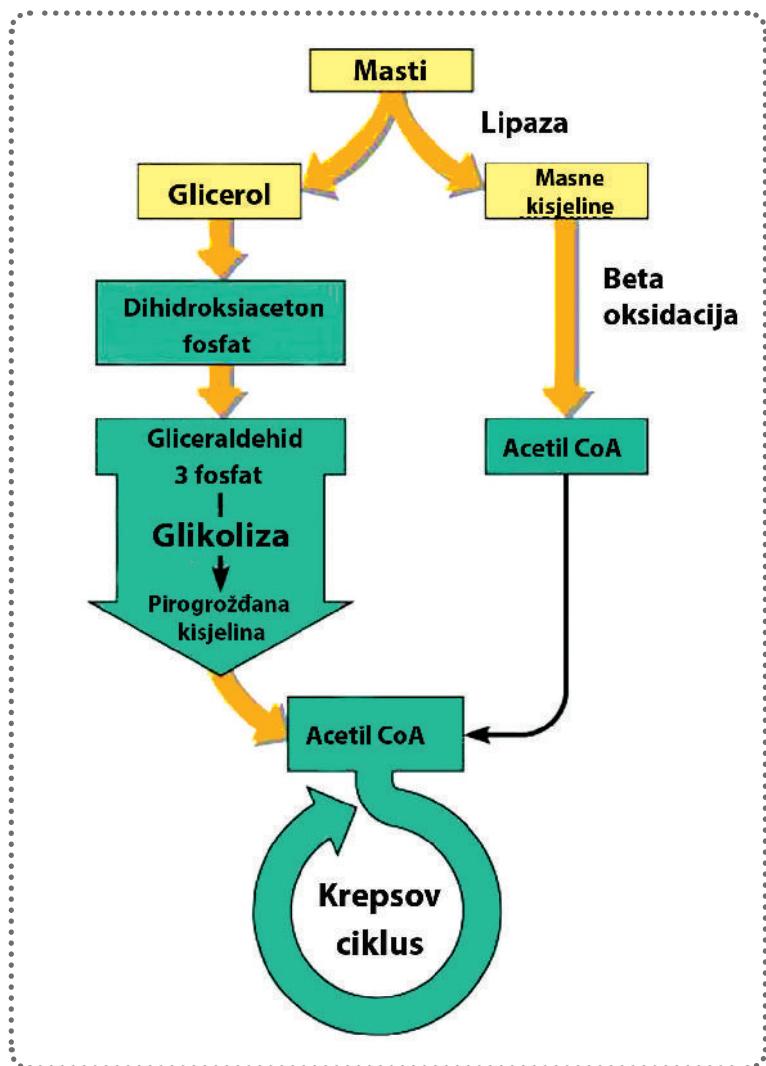
U anaerobnom disanju (respiracijama), akceptori elektrona su **oksidisana neorganska jedinjenja** (NO_3^- , SO_4^- , Fe^{3+} , CO_2 , SO_4). Mnoge bakterije imaju ovaj lanac disanja u kome su akceptor vodonika oksidisana neorganska jedinjenja. Količina energije koja se dobije u ovim respiracijama je manja od energije dobijene u aerobnom disanju, ali je veća u odnosu na anaerobne fermentacije. Mikroorganizmi koji CO_2 koriste kao akceptor vodonika i elektrona i pri tome stvaraju metan zovu se **metanogene bakterije**. Ovdje spadaju vrste iz rodova: *Methanobacterium*, *Methanococcus* i dr. Žive u rumenu i unutrašnjim organima životinja, gdje su toliko aktivne da govedo dnevno izbací 200 do 400 L metana. Primjenjuju se u proizvodnji metana iz otpadnih voda na farmama. Metan koji stvaraju ove bakterije, zajedno sa drugim gasovima, koristi se za zagrijavanje i osvjetljenje.

RAZGRADNJA PROTEINA

Neki mikroorganizmi koriste proteine kao izvor energije i ugljenika. Pošto su proteini složene građe i kao takvi ne mogu da se unesu u ćeliju, mikroorganizmi izdvajaju u spoljnu sredinu enzime **proteaze** pomoću kojih razgrađuju proteine **do aminokiseline**. Aminokiseline zatim putem aktivnog transporta ulaze u ćeliju i uključuju se u katabolizam. Prvo se vrši **dezaminacija aminokiseline**, a zatim **transaminacijom amino grupe** prelazi na neku alfa keto kiselinu. Ostatak aminokiseline se obično transformiše u **pirogrožđanu kiselinu**, a ova se uključuje u ciklus trikarbonskih kiselina ili aerobnih fermentacija, pri čemu se oslobađa energija. Nastala pirogrožđana kiselinu se može uključiti i u biosinteze gradivnih jedinica preko acetil-CoA. Mikroorganizmi koji energiju dobijaju iz proteina i aminokiseline su neke patogene bakterije i gljive, ali i veći broj mikroorganizama koji žive u zemljištu.

RAZGRADNJA MASTI (LIPIDA)

Lipidi su estri glicerola i masnih kiselina. U odsustvu pogodnijih supstrata, neki mikroorganizmi iz ćelije izdvajaju **egzoćelijske lipaze** pomoću kojih se vrši hidroliza lipida na **glicerol i masne kiseline** (slika 161). Nakon toga se ovi produkti usvajaju u ćeliju gdje se vrši njihova dalja razgradnja.



SLIKA 161 – Šematski prikaz razgradnje masti

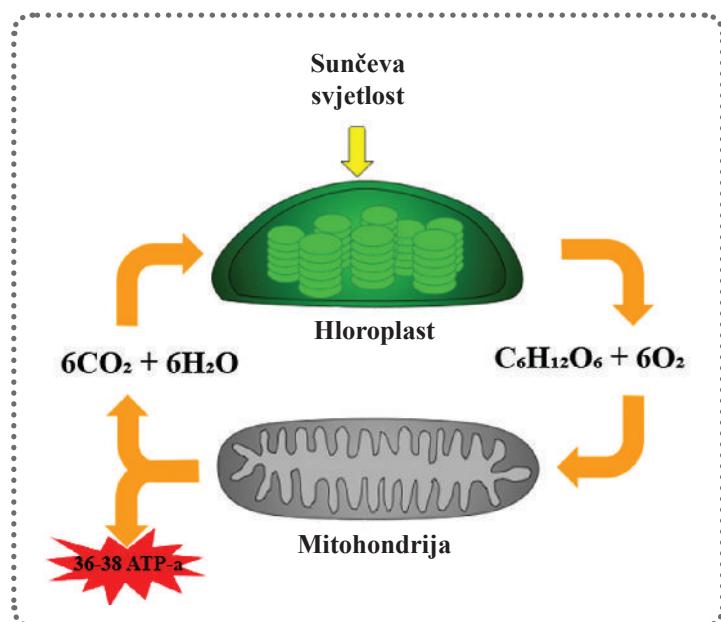
Glicerol se fosforiliše i transformiše po EMP putu do **pirogroždane kiseline**. Masne kisjeline se aktiviraju povezivanjem sa CoA. Dalja razgradnja se odvija po tipu beta oksidacije sve do **acetil-CoA**. Acetyl-CoA se zatim uključuje u ciklus trikarbonskih kiselina ili u druge metaboličke procese u ćeliji. Masne kiseline su bogat izvor energije jer imaju dugačke lance sa velikim brojem C atoma. Mikroorganizmi koji lipide koriste kao izvor energije žive u zemljишtu, na prehrabbenim proizvodima i u organizma za varjenje. Najpoznatije lipolitičke bakterije su iz rođava: *Mycobacterium*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, a lipolitičke gljive iz rođava: *Penicillium* i *Aspergillus*.

NEORGANSKE MATERIJE KAO IZVOR ENERGIJE

Mali broj mikroorganizama energiju dobija iz neorganskih jedinjenja. Ovi mikroorganizmi se zovu **hemolitotrofi**. Zastupljeni su u velikom broju u zemljisu i vodama i značajna su karika u kruženju elemenata. Kao izvor energije, ovi mikroorganizmi, u zavisnosti od vrste, mogu da koriste: amonijum ion, sumporvodonik, vodonik, elementarni sumpor i dvovalentni ion gvožđa. Oksidacijom amonijum jona prvo nastaju nitriti, a daljom oksidacijom nitrita nastaju nitrati. Ovaj proces se zove **nitifikacija**. Značajan je za zemljishte i vodene sredine, jer se tako obezbjeđuju nitrati – najpogodniji oblik azota za ishranu biljaka.

DOBIJANJE ENERGIJE U PROCESU FOTOSINTEZE

Fotosinteza je proces u kome se svjetlosna energija transformiše u hemijsku energiju, koja se dalje koristi za procese biosinteze organske materije iz ugljendioksida i vode (slika 162).



SLIKA 162 – Šematski prikaz fotosinteze i respiracije

Svi mikroorganizmi koji vrše proces fotosinteze posjeduju zeleni pigment hlorofil, a neki imaju i dopunske, različito obojene pigmente. Kod eukariotskih mikroorganizama hlorofil i dopunski pigmani su smješteni u posebnim organelama – hloroplastima, a kod prokariotskih mikroorganizama se nalaze u tvorevinama koje se zovu

hromatofore. Alge i cijanobakterije sadrže hlorofil *a* i hlorofil *b*. Oni se razlikuju po sposobnosti apsorpcije svjetlosti različitih talasnih dužina. Kada kvant svjetlosti padne na hlorofil, on se apsorbuje, izbaci elektron iz hlorofila i hlorofil postaje pozitivno nanelektrisan. Elektron se prenosi na hinon (ubihinon), pa na lanac citohroma i ponovo se vraća na nanelektrisani hlorofil, pri čemu ga vraćaju u prvobitno, nepobuđeno stanje. Prilikom prenosa elektrona kroz lanac disanja, osloboda se energija koja se konvertuje u ATP.

ANABOLIZAM

Energija koja se oslobodi u katabolizmu najvećim dijelom se koristi u biosinteza (anabolizmu). Katabolizam i anabolizam se odvijaju istovremeno, tako da se energija iz katabolizma odmah iskoristi u anabolizmu. Najveći broj polaznih jedinjenja za biosinteze dobija se iz **intermedijarnih proizvoda Krepsovog ciklusa**. To su: pirogrožđana kiselina, alfa keto glutarna kiselina, fumarna kiselina, sukcinil-CoA, acetil-CoA.

BIOSINTEZA UGLJENIH HIDRATA

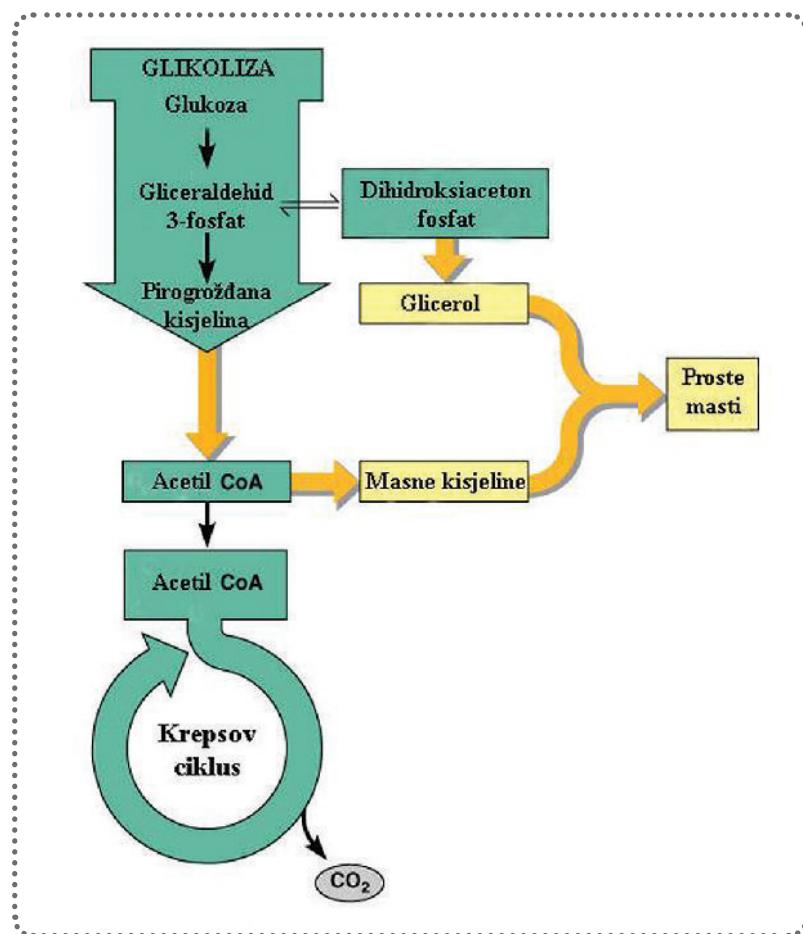
Ugljeni hidrati su u ćelijama mikroorganizama zastupljeni u vidu polisaharida i monosaharida. U toku biosinteze prvo se vrši biosinteza **monosaharida**, a zatim polisaharida. Mikroorganizmi mogu sintetisati monosaharide iz ugljendioksida i organskih jedinjenja. Ugljendioksid, kao izvor ugljenika za biosintezu monosaharida, mogu da koriste samo **autotrofi**. Redukcija CO₂ zahtijeva puno energije. **Heterotrofni mikroorganizmi** sintetiziraju šećere iz redukovanih organskih molekula. Sinteza glukoze iz nešećera zove se **glukoneogeneza**. Biosinteza pentoza, eritroza i trioza vrši se u pentozofosfatnom putu. Ovi šećeri se mogu dalje uključivati u biosinteze drugih jedinjenja. Iz monosaharida nastaju polisaharidi.

BIOSINTEZA MASTI

Masti ulaze u sastav ćelijskog zida, citoplazmine membrane i drugih membrana u ćeliji, a mogu se nakupljati i kao rezervne hranljive materije. Čine 1–30% suve mase ćelije. Dok se razlaganje masnih kiselina vrši u mitohondrijama, njihova sinteza se vrši u **citoplazmi**.

Molekul masti je građen od glicerola (glicerina) i masnih kiselina. Biosinteza glicerina se vrši iz **3 fosfo gliceraldehida** koji je međuproizvod razlaganja glukoze. On se zatim redukuje, pri čemu nastaje glicerin fosfat, od koga defosforilacijom nastaje glicerin (slika 163).

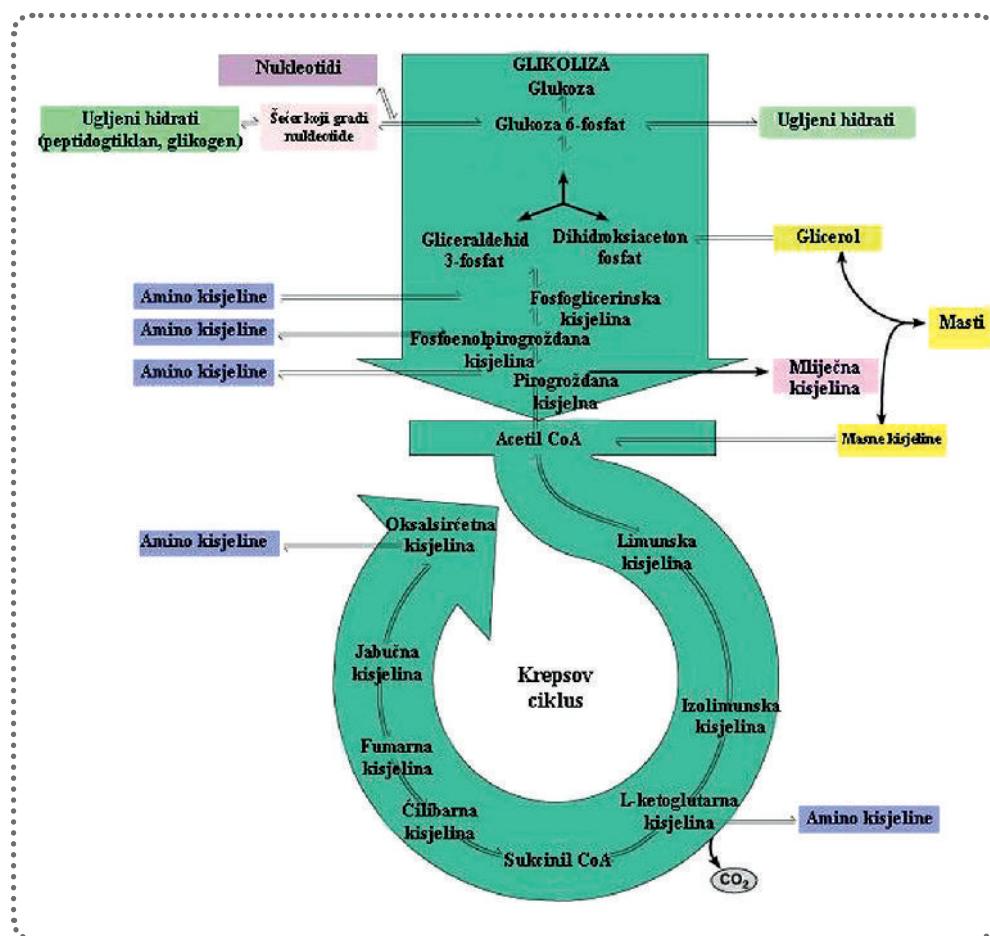
Neposredni prethodnik sinteze masnih kisjelina je **acetil CoA**. Kod eukariotskih mikroorganizama, prilikom sinteze masnih kisjelina sa dugim lancima, prvo se vrši kondenzacija acetil CoA i preko acet sirčetne i beta hidroksi buterne kiseline nastaje buterna kiselina, a zatim se lanac produžava sa po dva C atoma povezivanjem sa acetil CoA. U toku sinteze masnih kisjelina sa kratkim i srednje dugim lancima, prvo dolazi do karboksilacije acetil CoA, pri čemu nastaje **malonil CoA**. Dakle, sinteza ovih masnih kisjelina počinje karboksilacijom acetil CoA u malonil CoA (malonil CoA put). Malonil CoA se jedini sa još jednim acetil CoA, uz oslobađanje jednog CoA, i nastaje karboksi-acetoacetil CoA. Ovaj se dekarboksiliše i redukuje i prelazi u butiril CoA, na koji se veže malonil CoA i tako se lanac produžava. Biosinteza masnih kisjelina kod prokariota se vrši u citoplazmi po malonil CoA putu. Na kraju, nakon završene biosinteze glicerina i masnih kisjelina, dolazi do njihove **esterifikacije** u molekule masti.



SLIKA 163 – Šema biosinteze masti

BIOSINTEZA AMINOKISJELINA

Veliki broj mikroorganizama usvaja gotove aminokiseline iz spoljne sredine i u ćeliji se vrši njihova dalja transformacija i povezivanje u proteine. Međutim, mikroorganizmi su sposobni da sintetizuju i svih 20 aminokiselina, za razliku od viših organizama koji u dovoljnoj količini mogu da sintetišu samo fakultativne aminokiseline, a esencijalne ne sintetišu ili ih sintetišu u nedovoljnoj količini. Polazna jedinjenja za biosintezu aminokiselina kod mikroorganizama su: **amino grupa, organske kiseline iz Krepsovog ciklusa** (alfa keto glutarna kiselina, pirogroždana kiselina, fumarna kiselina), kao i **pentoze i eritroze** iz pentoza-fosfatnog puta razlaganja glukoze i energija iz ATP (slika 164).



SLIKA 164 – Katabolizam i anabolizam

Amino grupa se u ćeliji mikroorganizama formira u procesu asimilacione redukcije nitrata ili u procesu azotofiksacije. Biosinteza aminokisjelina se odvija u procesima **aminacije i transaminacije**. Alfa keto glutarna kisjelina aminacijom daje glutaminsku kisjelinu. Aminacijom pirogroatne kisjeline nastaje alanin, a aminacijom fumarne kisjeline nastaje asparaginska kisjelina. **Glutaminska i asparaginska kisjelina** su polazna jedinjenja iz kojih se sintetišu druge aminokisjeline. Eritroza fosfati su polazna jedinjenja za biosintezu tirozina i fenil alanina, a pentoza fosfati za biosintezu histidina.

BIOSINTEZA PROTEINA

Proteini su organska jedinjenja koja se sastoje iz aminokisjelina međusobno povezanih peptidnim vezama. Tako povezane aminokisjeline čine polipeptidni lanac. Biosinteza proteina odvija se **u ribozomima**. Informacija o redoslijedu vezivanja i broju aminokisjelina zapisanoj u DNK prenosi se na **informacionu RNK** koja se veže za ribozom. Ribozom se kreće duž lanca informacione RNK i prenosi informacije o redoslijedu vezivanja aminokisjelina na transportnu RNK. Transportna RNK donosi do ribozoma odgovarajuće aminokisjeline koje se povezuju u peptidni lanac. Transport i povezivanje aminokisjelina odvija se u četiri faze: **aktivacija aminokisjeline** (vezivanje aminokisjeline za transportnu RNK), **inicijacija** (formiranje početnog, inicijalnog kompleksa), **elongacija** (polimerizacija – povezivanje aminokisjelina u polipeptidni lanac) i **terminacija** (završetak sinteze polipeptidnog lanca).

PITANJA

1. Šta predstavlja metabolizam mikroorganizama?
2. Šta je anabolizam?
3. Šta je katabolizam?
4. Kako se dijele mikroorganizmi u odnosu na izvor ugljenika koji koriste u ishrani?
5. Kako se dijele mikroorganizmi prema izvoru energije koji koriste za obavljanje biohemijskih procesa?
6. Koji su faktori rasta mikroorganizama?
7. Koji su inhibitori rasta mikroorganizama?
8. Koji su načini transporta malih molekula kroz ćelijsku membranu mikroorganizama?
9. Koji su načini transporta krupnih molekula kroz ćelijsku membranu mikroorganizama?
10. Koje se osnovne hemijske reakcije odvijaju u ćelijama mikroorganizama?
11. Šta su enzimi i koje su im osnovne karakteristike?
12. Koje hranljive materije koriste mikroorganizmi kao izvore energije?
13. Koje hranljive materije koristi najveći broj mikroorganizama?
14. Kako mikroorganizmi razlažu polisaharide?
15. Kako se naziva prva faza razlaganja glukoze do pirogroždane kiseline?
16. Koja su tri načina razlaganja glukoze u prvoj fazi i objasni ih?
17. Koji je put razlaganja glukoze zastupljen kod većine mikroorganizama?
18. Koja je druga faza razlaganja glukoze?
19. Šta su fermentacije?
20. Kako nastaju anaerobne fermentacije?
21. Koje su anaerobne fermentacije najzastupljenije?
22. Objasni homofermentativni i heterofermentativni tip mlječne fermentacije.
23. Kako nastaju aerobne fermentacije?
24. Koje su aerobne fermentacije najzastupljenije?

25. Objasni aerobno disanje (ciklus trikarbonskih kisjelina).
26. Koje su najznačajnije bakterije mlijecne kiseline i gdje su našle primjenu?
27. Koji mikroorganizmi su najaktivniji proizvođači etil alkohola?
28. Kako mikroorganizmi vrše razgradnju proteina?
29. Kako mikroorganizmi vrše razgradnju masti?
30. Kako mikroorganizmi dobijaju energiju iz neorganskih jedinjenja?
31. Šta je fotosinteza?
32. Gdje se nalazi hlorofil kod prokariota, a gdje kod eukariota?
33. Iz čega se sastoje masti?
34. Iz čega se sastoje proteini?
35. Iz čega se sastoje ugljeni hidrati?
36. Kako mikroorganizmi sintetišu ugljene hidrate, masti i bjelančevine?

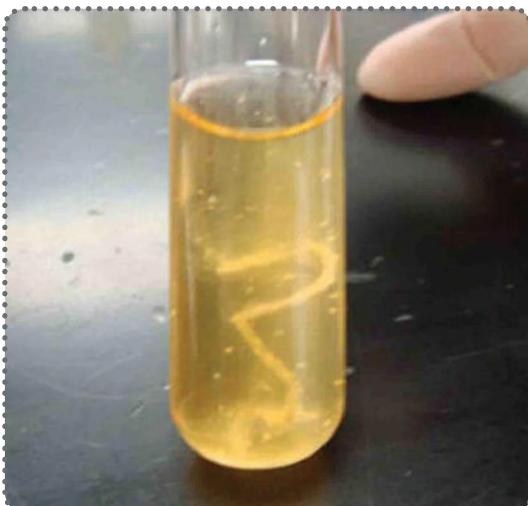
..... RAST I RAZMNOŽAVANJE MIKROORGANIZAMA

RAST ĆELIJE MIKROORGANIZAMA

Rast ćelije mikroorganizama predstavlja **povećanje njene mase i veličine**. U povoljnim uslovima, rast ćelije se završava njenim razmnožavanjem, što dovodi do povećanja njihovog broja. Te novostvorene ćelije čine **populaciju** određenog mikroorganizma. Vrijeme koje je potrebno da se ćelija udvostruči zove se **generacijsko vrijeme**. Brzina rasta se izražava brojem generacija u jedinici vremena. Generacijsko vrijeme se, u zavisnosti od vrste mikroorganizma, razlikuje u istim uslovima sredine. Tako npr., na optimalnoj temperaturi generacijsko vrijeme *E. coli* je 17, *Lactobacillus acidophilus* 66, *Salmonella Typhi* 23, *M. tuberculosis* 792, *Euglena gracilis* 660, *Leishmania donovani* 660, *Aspergillus niger* 150, *Saccharomyces cerevisiae* 120 minuta itd.

PRAĆENJE RASTA MIKROORGANIZAMA

Za praćenje rasta mikroorganizama, lakše je pratiti rast njihove populacije, nego rast pojedinačnih ćelija. Zasijavanjem mikroorganizama **u tečnu hranljivu podlogu**, može se pratiti kojom brzinom se populacija uvećava, u kom periodu je rast najintenzivniji, kad nastupa usporavanje rasta populacije i kad dolazi do uginuća najvećeg broja ćelija u populaciji (slika 165).

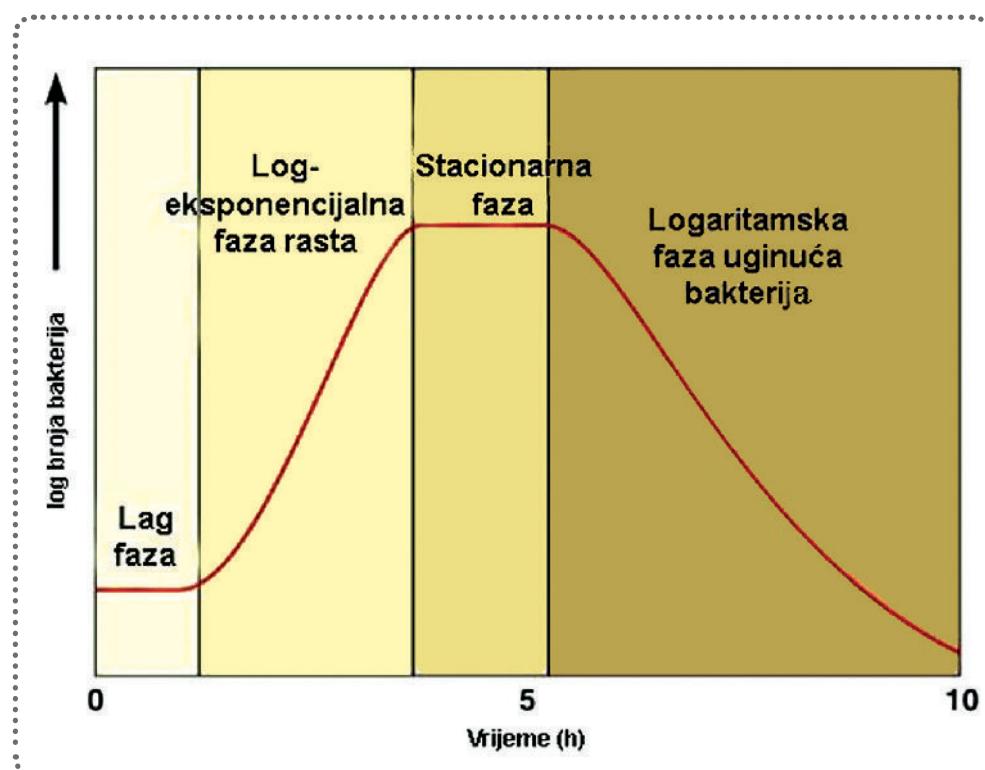


**SLIKA 165 – Bakterijski rast
u hranljivom bujonom – podizanje taloga**
(<http://www.scienceprofonline.com/images/science-image-library/microbiology/growth-media/liquid-medium-bacterial-growth3-SIL.jpg>)

Rast populacije se prati **određivanjem broja ćelija u određenim vremenskim periodima**. To se može uraditi na više načina: zasijavanjem mikroorganizama na odgovarajuću podlogu, nakon čega se broje izrasle kolonije, određivanjem biomase, enzimske aktivnosti ili mjeranjem gustine populacije spektrofotometrijski.

FAZE RASTA POPULACIJE MIKROORGANIZAMA

Na osnovu kvantitativnih pokazatelja rast populacije se može prikazati grafički – **krivuljom** koja pokazuje kako populacija raste u određenom vremenskom periodu (slika 166).



SLIKA 166 – Kriva rasta populacije mikroorganizama

Lag faza (početna faza, inkubacioni period) je faza adaptacije mikroorganizama na nove uslove života (slika 173). Broj mikroorganizama se ne povećava, ali su oni fiziološki aktivni. Ćelije sintetišu enzime i ostale ćelijske komponente, što rezultira njihovim rastom. Dužina inkubacionog perioda je različita kod raznih mikroorganizama. Poslije perioda inkubacije nastaje **period ubrzanog razmnožavanja**. Počinje dioba svih bakterijskih ćelija u sredini u kojoj se nalaze. Ali, kako se kod svih ćelija nije istovremeno završio inkubacioni period, pošto to zavisi od individualnih sposobnosti svake ćelije, populacija mikroorganizama se postepeno povećava sve do kraja perioda. Tada su sve ćelije sposobne da se dijele u određenim vremenskim intervalima. Zatim slijedi period intenzivnog razmnožavanja ili logaritamski period (**log faza**, logaritamska faza). Mikroorganizmi se u ovoj fazi intenzivno razmnožavaju, geometrijskom progresijom. Ćelije u ovoj fazi su mlade i biohemički veoma aktivne. U ovoj fazi se zato vrše ispitivanja različitih biohemičkih i fizioloških parametara koji se koriste za detaljnije upoznavanje mikroorganizama. Period intenzivnog razmnožavanja traje izvjesno vrijeme. Broj bakterija dostiže najveći nivo, pa se onda njihov broj više ne povećava, nego se održava različito dugo, što zavisi od vrste mikroorganizama i uslova sredine. To je period usporenog razmnožavanja ili **stacionarna faza**. U ovoj fazi ćelije se i dalje dijele, ali je broj novonastalih i broj izumrlih ćelija jednak. Razmnožavanje se usporava i ćelije sve više izumiru uslijed nepovoljnih uslova sredine. Mikroorganizmi su otporni, fiziološki su još dosta aktivni, pa se u ovoj fazi koriste za proizvodnju antibiotika, fermentisanih napitaka od mlijeka, mikrobioloških đubriva i sl. **Faza uginuća** je faza u kojoj dolazi do smanjene diobe i povećanog uginuća ćelija, jer se smanjuje količina hranljivih materija, mijenja se pH sredine i nagomilava velika količina inhibitornih materija koje zaustavljaju razmnožavanje. Kriva faze uginuća se donekle podudara sa periodom intenzivnog razmnožavanja, samo u **obrnutom pravcu**. Razlog je dalje pogoršanje uslova u sredini. Period izumiranja mikroorganizama je različit u zavisnosti od vrste. Međutim, bez obzira na nepovoljne uslove, nikada ne uginu sve ćelije. Ponovna aktivacija mikroorganizama postiže se presijavanjem na svježe hranljive podloge.

KONTINUALNI RAST POPULACIJE MIKROORGANIZAMA

Održavanje populacije mikroorganizama u istoj fazi rasta zove se **kontinualni rast**. Ovakav rast se postiže stalnim dodavanjem svježih hranljivih materija, uz istovremeno odvođenje produkata metabolizma, a vrši se u specijalnim aparatima koji se zovu **hemostati ili fermentori**. Kontinualna kultura je stalni izvor ćelija u određenoj fazi rasta, čime je omogućena njihova primjena u industriji, kada su potrebne velike količine umnoženih mikroorganizama. Mikroorganizmi koji se razmnožavaju binarnom diobom uvećavaju brojnost geometrijskom progresijom, pa se broj ćelijskih dioba u određenom vremenskom periodu može i matematički izračunati.

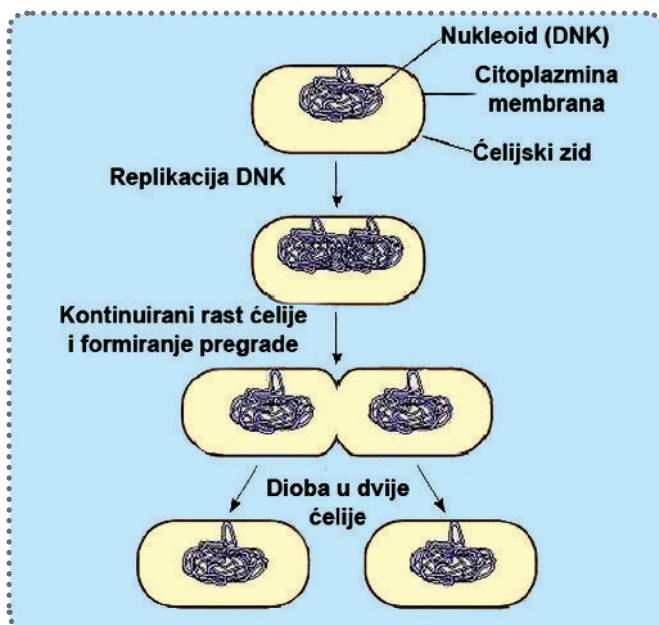
RAZMNOŽAVANJE MIKROORGANIZAMA

Proces razmnožavanja ima za cilj produženje vrste i prenošenje nasljedne materije na potomke. Kod mikroorganizama može da se odvija na dva načina: **bespolno i polno**. Pri bespolnom razmnožavanju nove jedinke nastaju **iz vegetativnih ćelija**, bez oplodjenja. Polno razmnožavanje predstavlja proces spajanja muške i ženske polne ćelije, pri čemu nastaje nova, drugačija ćelija, **zigot**, koja se potom dijeli. Polne ćelije se nazivaju **gameti**. Mikroorganizmi se uglavnom razmnožavaju bespolnim putem, dok se polno razmnožavaju samo kada nastupe **nepovoljni uslovi** za život. Kod polnog razmnožavanja dolazi do genetskog osvježavanja vrste.

Bespolno razmnožavanje

Kod mikroorganizama postoje različiti načini bespolnog razmnožavanja: diobom, pupljenjem, multiplom diobom, fragmentacijom, plazmotomijom, vegetativno i pomoću spora.

Diobom se razmnožavaju bakterije, alge, protozoe i kvasci. Kod bakterija je najviše zastupljena poprečna dioba. Bakterijska ćelija kopira svoj genetski materijal, a zatim se dijeli na dvije jednakе kćerke ćelije (slika 167). U procesu diobe ćelija se prvo izdužuje, a potom se na sredini ćelije citoplazmina membrana počinje uvrтati, pri čemu se formiraju dvije poprečne citoplazmine membrane, koje ćeliju dijele na dva jednakaka dijela. Nakon toga, dolazi do obrazovanja ćelijskog zida.



SLIKA 167 – Razmnožavanje bakterijske ćelije
– prostom diobom ćelije na dvije jednakе kćerke ćelije

Protozoe se najčešće dijele poprečnom diobom, slično kao i bakterije. Cilijske (trepljari) se dijele poprečno prema osi tijela. Neke flagelate (bičari) se dijele uzdužno.

Multiploplom, višestrukim diobom se dijele neke flagelate i sporozoe u stanju mirovanja – u cistama. U multiploj diobi jedro se dijeli višestruko, pri čemu nastaje veliki broj novih jedara. Svako novo jedro se obavije dijelom citoplazme iz roditeljske ćelije i postaje samostalna jedinka, koja se zatim oslobađa iz ciste.

Pupljenje je način bespolnog razmnožavanja karakterističan za kvasce, protozoe i bakterije iz reda *Hyphomicrobiales*. Na površini ćelije kvasca se formira mali pupoljak, koji raste dok ne dostigne veličinu majke ćelije. Nakon toga dolazi do odvajanja pupoljka koji nastavlja da živi samostalno, a kod nekih kvasaca pupoljci ostaju na majci ćeliji. Kod protozoa se pupljenje javlja kod onih vrsta koje su pričvršćene za podlogu. Kada pupoljci narastu, odvajaju se od majke ćelije i dalje se razvijaju kao samostalne jedinke. Ako se pupoljci ne odvoje od roditeljske ćelije, postaju kolonijalne protozoe.

Fragmentacija je način bespolnog razmnožavanja karakterističan za višećelijske končaste alge, gljive, končaste bakterije – aktinomicete i cijanobakterije. Končaste ćelije se dijele na veće ili manje fragmente. Svaki fragment se dalje razvija i daje nove potomke, koji su istovjetni kao i roditeljske ćelije.

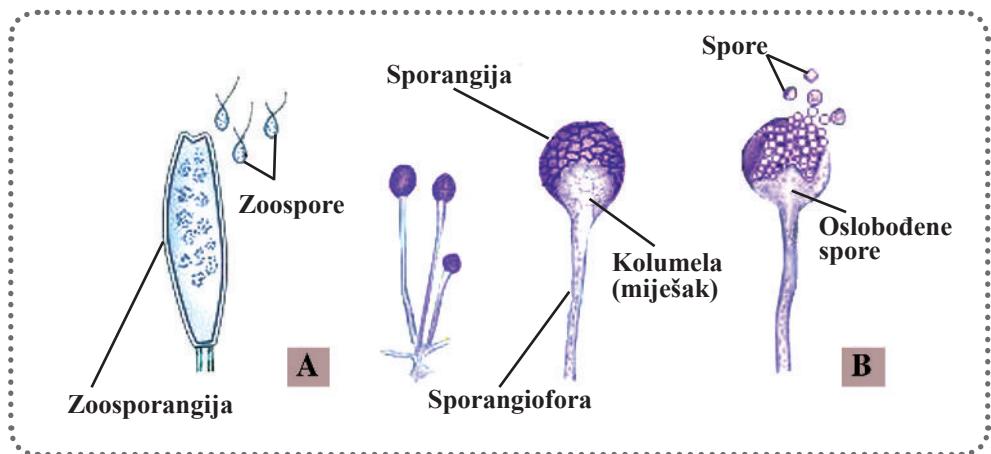
Plazmotomija predstavlja diobu višećedarnih protozoa, pri kojoj se dijeli samo citoplazma.

Vegetativno razmnožavanje je zastupljeno kod višećelijskih mikroorganizama. Nova generacija nastaje iz višećelijske tvorevine koja kod raznih vrsta može imati različit oblik i strukturu. Te tvorevine mogu biti: sklerocije, rizomorfe i dr. **Sklerocije** su tvorevine za vegetativno razmnožavanje gljiva, a predstavljaju splet zbijenih hifa. Spoljni dio sklerocije je zadebljan. Formiraju ih fitopatogene gljive. **Rizomorfe** nastaju uzdužnim povezivanjem hifa, pa liče na pantlike. Najviše su zastupljene kod gljiva iz klase *Basidiomycotina*.

Bespolno razmnožavanje sporama karakteristično je za alge i gljive. Kod algi spore se obrazuju u vegetativnim ćelijama ili sporangijama. Kod končastih gljiva formira se više vrsta spora: zoospore, sporangiospore, konidije, piknospore, hlamidospore, artrospore, blastospore. U povoljnim uslovima, iz spora klijanjem nastaju nove hife, a u nepovoljnim uslovima, služe za konzervaciju.

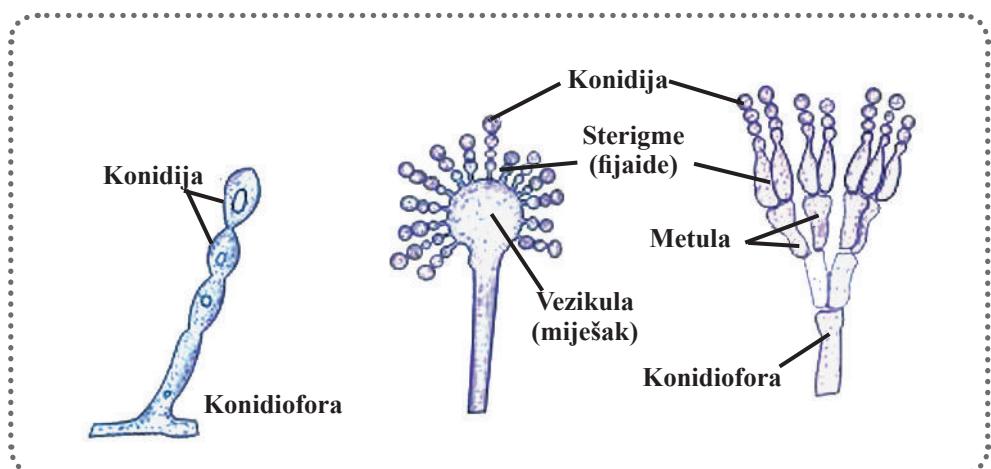
Zoospore su pokretne i javljaju se kod gljiva koje žive u vodenim sredinama. Kreću se pomoću flagela. Formiraju se u zoosporangijama, iz kojih izlaze ako je vlažnost sredine visoka i nakon toga daju novu jedinku (slika 168).

Sporangiospore (endospore) se formiraju u posebnim tvorevinama koje se zovu sporangije. Kada sporangija sazri, ona puca, a iz rasutih spora klijaju nove vegetativne ćelije (slika 168).



SLIKA 168 – Šematski prikaz zoospora (A) i sporangiospora (B)

Konidije se stvaraju na posebnim plodonosnim hifama – **konidioforama** (slika 169). Mogu se formirati slobodno na površini kolonije (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* (slika 170), *Alternaria*) ili u posebnim tvorevinama – piknidima, zbog čega se nazivaju piknospore (slika 171). Makrokonidije su izdužene, septirane spore, dok su mikrokonidije jednoćelijske ovalne ili eliptične.



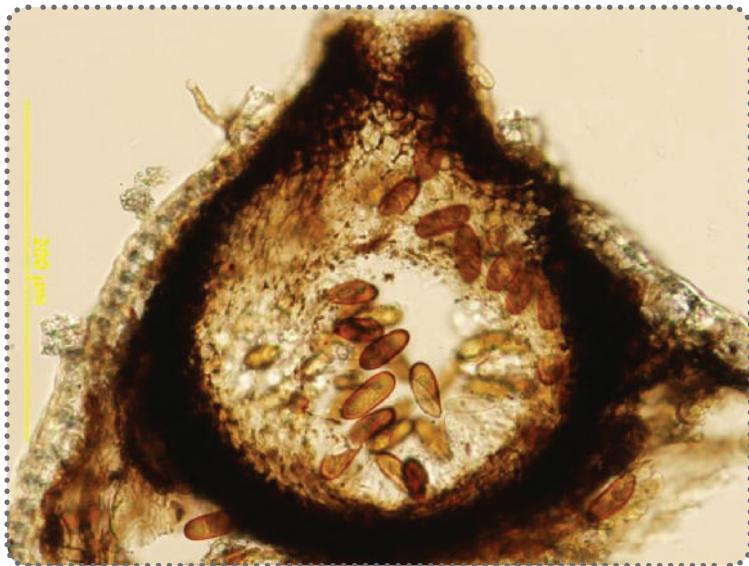
SLIKA 169 – Šematski prikaz konidija



SLIKA 170 – Karakteristične spore (makrokonidije)

Fusarium culmorum

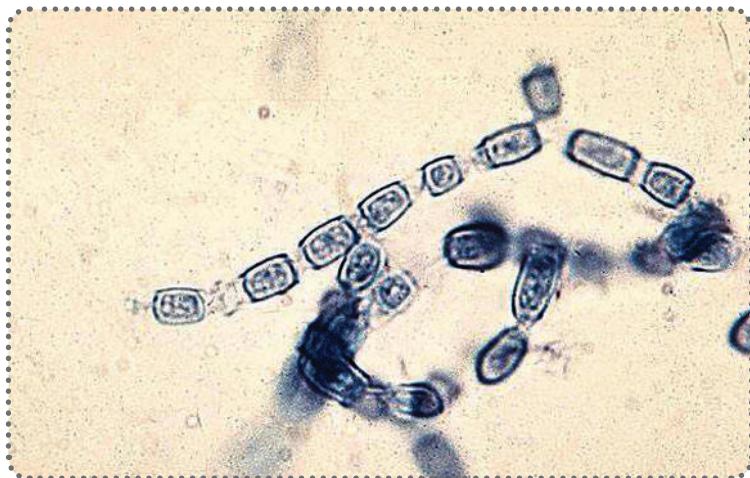
(<http://www.medical-labs.net/fusarium-species-colony-and-microscopic-description-3138>)



SLIKA 171 – Piknid sa piknosporoma

(<https://extension.umaine.edu/ipm/ipddl/plant-disease-images/sphaeropsis-diplodia-of-pine-pathogen-images>)

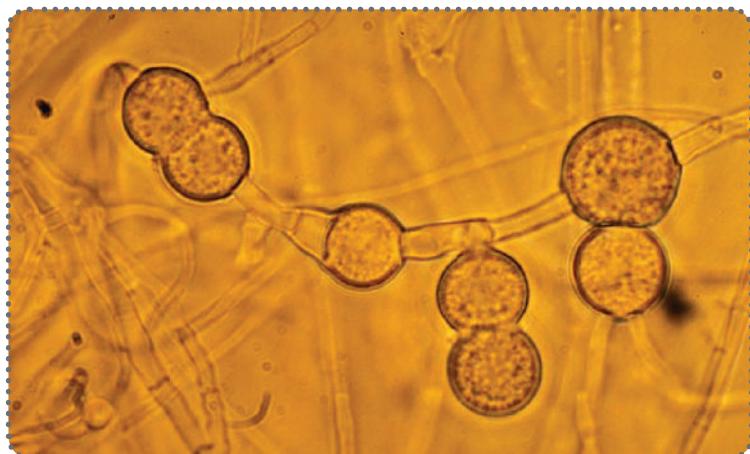
Artrospore nastaju segmentacijom hifa u samostalne tvorevine oblika pravougogonika i debelih zidova. One se potom izdvajaju i pretvaraju u zrele spore (slika 172).



SLIKA 172 – Artrospore

(https://classconnection.s3.amazonaws.com/30/flashcards/2121030/jpg/arthroconidia_of_coccidioides_immitis_39g0040_lores1363202509811.jpg)

Hlamidospore su okruglaste tvorevine sa zadebljalim zidovima koje se formiraju duž ili na kraju hifa (slika 173). Stvaraju ih mnoge saprofitske i fitopatogene gljive. Obojene su. Zidovi su im građeni od glikogena i lipida.



SLIKA 173 – Hlamidospore

(<http://www.studyblue.com/notes/note/n/parasitology-exam-4/deck/6324243>)

Polno razmnožavanje

Suština polnog razmnožavanja sastoji se u rekombinaciji jedrovog hromatinskog materijala između dvije jedinke. Mikroorganizmi su osobeni po tome, što (po pravilu) posjeduju haploidnu hromozomsku garnituru, zbog čega njihove ćelije imaju funkciju i gameta (polnih ćelija) i individue. Tokom polnog razmnožavanja dolazi do spajanja dvije haploidne ćelije (gameti), pri čemu nastaje **diploidni zigot**. Diploidno jedro zignota se zatim dijeli redukcionom diobom (mejozom), pri čemu ponovo nastaje ćelija sa haploidnim jedrom. U zavisnosti od uslova spoljašnje sredine, zigot može direktno da klijira u novu jedinku ili se iz njega prvo formira spora, a zatim iz spora nove jedinke. Obrazovanje gameta može biti na istoj individi ili na različitim individuama. Formirani gameti mogu biti iste veličine (izogameti), a polni proces se naziva izogamija. Kada su gameti različite veličine (heterogameti, anizogameti), polni proces se naziva heterogamija. Savršeniji oblik polnog razmnožavanja predstavlja obrazovanje jajne ćelije u oogoniji i pokretnih spermatozoida u anteridiji. Spajanje jajne ćelije i spermatozoida naziva se oogamija. Polni način razmnožavanja zastupljen je kod **gljiva, protozoa, algi i nekih bakterija**. Do spajanja gameta dolazi na različite načine.

Međutim, razmjenu hromatinskog materijala ponekad obavljaju i ćelije koje nemaju prirodu gameta. U tom slučaju, među njima ne dolazi do trajnog spajanja, već samo do **privremenog kontakta**, koji traje sve dok one ne razmijene dio hromatinske supstance. Takva pojava je otkrivena kod jednoćelijskih organizama i označena je kao konjugacija. Utvrđeno je da do konjugacije ne dolazi ako postoje povoljni uslovi sredine.

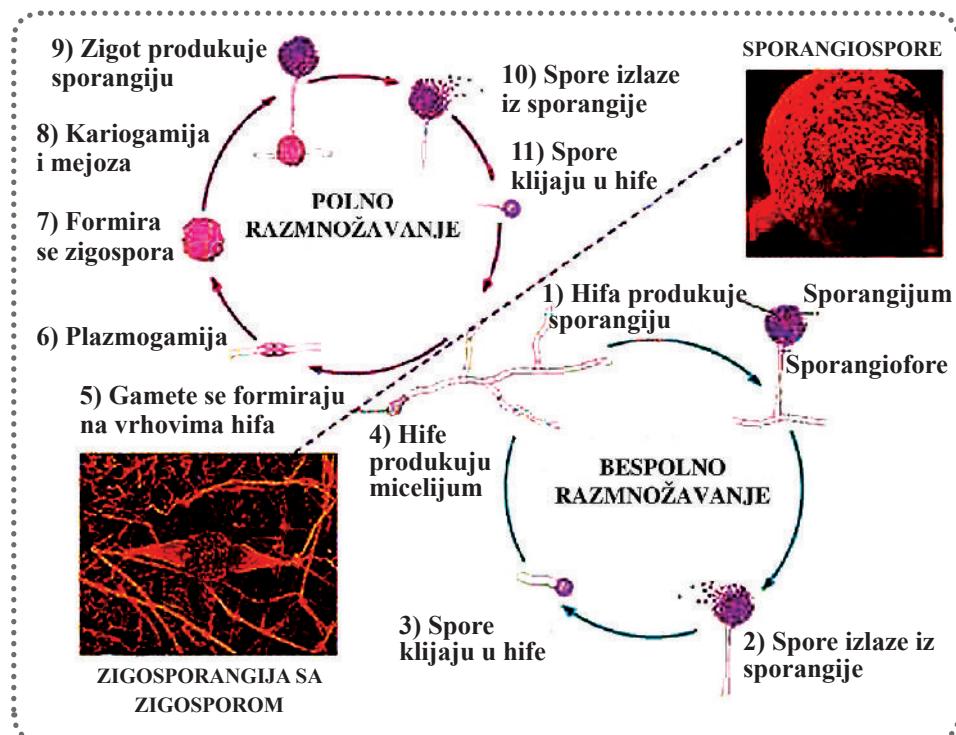
Konjugacija je način polnog razmnožavanja u kome se dvije roditeljske ćelije spajaju preko konjugacionog mostića. Konjugacija kod bakterija se vrši preko polnih pil. Da bi se ovaj proces obavio, moraju biti prisutne ćelije sa faktorom fertiliteta, odnosno **F plazmidom** (F faktor).

Kod protozoa i algi preko konjugacionog mostića dolazi do međusobne izmjene jedarnog sadržaja. Poslije spajanja dva protoplasta preko konjugacionog mosta, formira se zigot koji prelazi u fazu mirovanja. Nakon mirovanja, dolazi do redukcione diobe jedra, a zatim mitotske diobe, kada se dobiju četiri haploidna jedra. Tri jedra se degenerišu, a jedno obrazuje novu jedinku. Nakon toga, jedinke se razdvoje i žive kao posebne individue sa obnovljenim genetskim materijalom.

Končaste gljive tokom polne reprodukcije mogu da stvaraju različite spore: oospore, zigospore, askospore, bazidiospore.

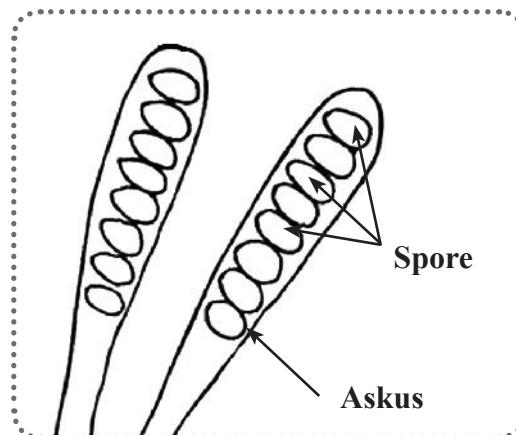
Oospore nastaju spajanjem ženske jajne ćelije, koja se formira u oogoniji i muške polne ćelije, koja se formira u anteridiji.

Zigospore nastaju spajanjem dvije hife različitih polova, koje zatim grade zigosporu. Ove spore formiraju gljive sa neseptiranom hifom iz klase *Zygomycotina* (slika 174).



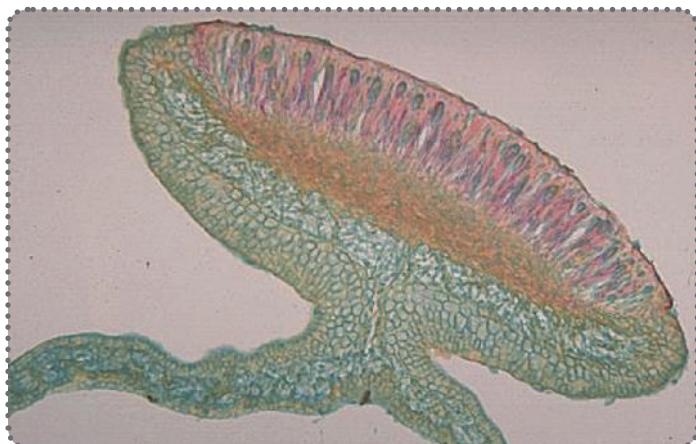
SLIKA 174 – Šematski prikaz nastajanja zigospora (polnih spora) i sporangiospora (bespolnih spora) (Todorović i Bojanić–Rašović, 2009.)

Askospore se formiraju u askusima koji su karakteristični za gljive iz klase *Ascomycotina*. Askus je sporangija u kojoj, poslije redukcionih diobe (mejoze) i dvije mitotičke diobe, nastaje osam askospora (slika 175).



SLIKA 175 – Šematski prikaz askusa sa askosporama

Askusi su obično grupisani u posebne tvorevine – tzv. **plodonosna tijela**, koja mogu biti različitog oblika i vrlo su značajna za klasifikaciju askomiceta. Askokarp – plodonosna tijela, mogu biti: otvorena – apotecije, poluotvorena – peritecije i zatvorena – kleistotecije. **Apotecije** su potpuno otvorena plodonosna tijela u obliku pehara, u kojima se nalaze askusi sa askosporama (slika 176).



SLIKA 176 – Apotecijum

(<http://biodidac.bio.uottawa.ca/ftp/biodidac/fungii/ascomyco/photo/asco001p.gif>)

Peritecije su poluotvorena plodonosna tijela sferičnog oblika, sa posebnim otvorom kroz koji izlaze askusi sa askosporama (slika 177).



SLIKA 177 – Peritecijum

(https://atrium.lib.uoguelph.ca/xmlui/bitstream/handle/10214/5909/Venturia_inaequalis_perithecioid_in_overwintered_leaf.jpg?sequence=1&isAllowed=y)

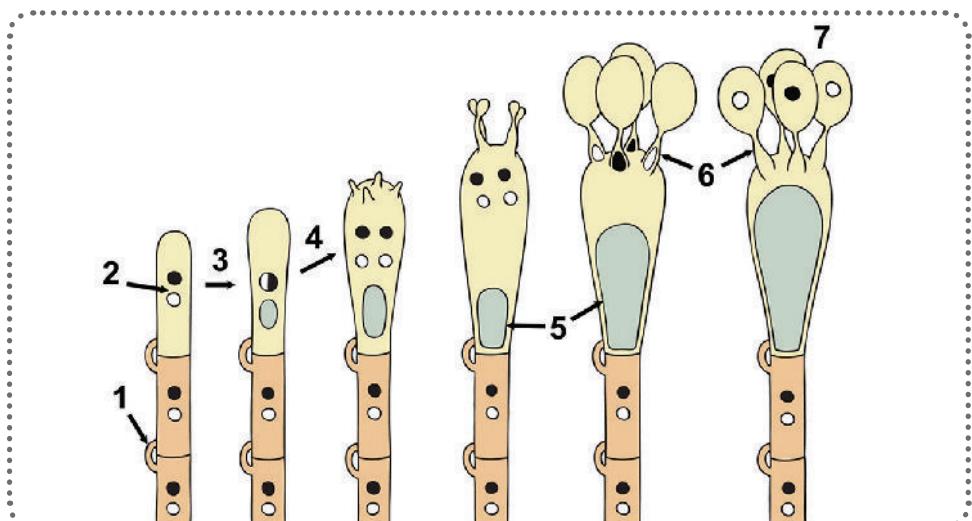
Kleistotecije su potpuno zatvorena plodonosna tijela iz kojih se nakon njihovog pucanja oslobađaju askusi sa askosporama (slika 178).



SLIKA 178 – Kleistotecijum

(https://www.cals.ncsu.edu/course/pp318/profiles_mirror/ascomycetes/00100104.jpg)

Bazidiospore se obrazuju na dršćicama (bazidima, bazidijama, bazidijumima) kod gljiva iz klase *Basidiomycotina* (slika 179).



SLIKA 179 – Šematski prikaz razvoja bazidijuma (bazidija) i bazidiospora: 1. Spona, 2. Nukleus, 3. Kariogamija (spajanje jedara), 4. Mejosa, 5. Vakuola, 6. Sterigma, 7. Bazidiospore
(<http://elite.prompt.hu/sites/default/files/tananyagok/StructureOfPlantsAndFungi/ch08s04.html>)

REPRODUKCIJA VIRUSA

Reprodukcija virusa se obavlja jedino u živim ćelijama u koje dospijevaju kroz povrede ili vektorima (insektima). Reprodukcija se svodi na umnožavanje njihove nukleinske kisjeline i sintezu proteinskog omotača kapsida. Preusmjerenje metabolizma ćelije domaćina u pravcu sinteze virusnih čestica vrši se po porukama virusnog genoma – nukleinske kisjeline. **Usmjeravanjem aktivnosti inficirane ćelije**, virusi ostvaruju poseban oblik parazitiranja koji se izjednačava sa njihovom reprodukcijom.

Prema nukleinskoj kisjelini koju sadrže, virusi se dijele na **DNK i RNK virus**e. RNK virusi se umnožavaju u citoplazmi, dok se DNK virusi uglavnom umnožavaju u jedru ćelije domaćina. Virusi se razmnožavaju na način koji je jedinstven u životu svijetu, zbog čega se koristi izraz umnožavanje. Kompletna, zrela ekstracelularna virusna čestica koja je sposobna da inficira ćeliju naziva se **virion**. Kada uđe u ćeliju, virus postaje aktivan i zove se **virus**. Virus koji je prodro u ćeliju preuzima kontrolu nad njom i koristi njen metabolizam za svoje umnožavanje. Posljedica umnožavanja virusa u ćeliji je liza – razgradnja ćelije i njena smrt.

Osnovne faze pri umnožavanju virusa su: adsorpcija, penetracija, sinteza djelova virusa, sazrijevanje i oslobođanje viriona (slika 180).

Adsorpcija (pripajanje) je vezivanje virusa za površinu ćelije domaćina. Pripajanje omogućuju reaktivne grupe kapsida, pomoću kojih virus pronalazi osjetljivo mjesto (receptor) na površini ćelije domaćina i veže se za njega.

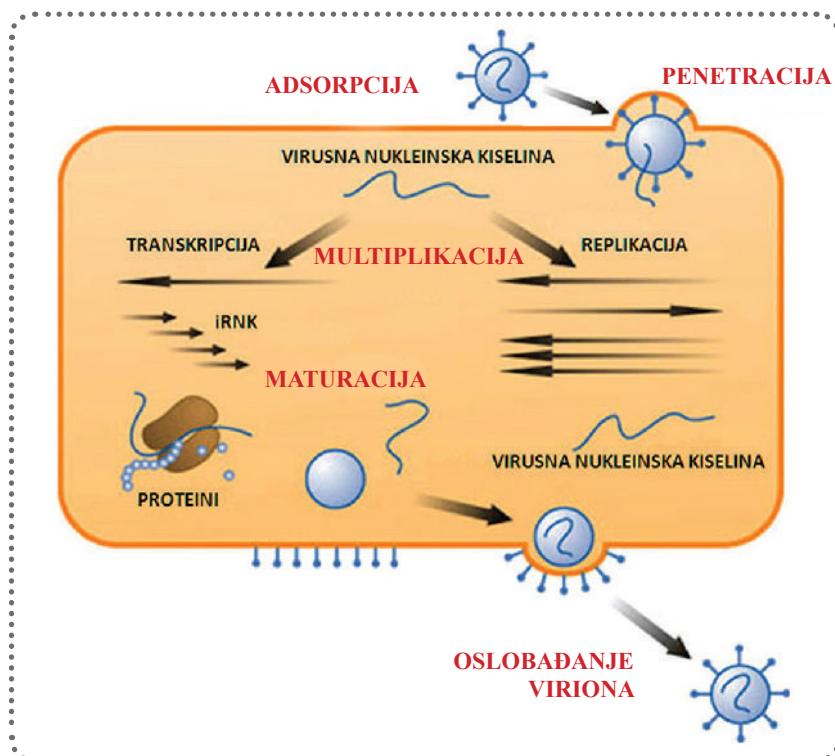
Penetracija (prodiranje) je ulazak virusa u ćeliju. Vrši se na različite načine, u zavisnosti od prirode samog virusa. Bakteriofag enzimima razlaže zid bakterije, praveći otvor, kroz koji zatim ubacuje svoju nukleinsku kisjelinu (kao ubrizgavanje tečnosti špricom za injekcije). Virusi bez dodatnog omotača ulaze pinocitozom. Kod virusa sa dodatnim omotačem penetracija se isto vrši pinocitozom, samo što se dodatni omotač stapa sa ćelijskom membranom, a ostatak virusa – nukleokapsid se ubacuje u ćeliju.

Dekapsidacija (gubljenje kapsida) se vrši po ulasku virusa u ćeliju. Enzimi ćelije domaćina razlažu kapsid, a virusna nukleinska kisjelina se oslobađa omotača. U ovoj fazi se ne može utvrditi prisustvo virusa u ćeliji.

Sinteza virusnih komponenti se obavlja u domaćinu tako što virusna nukleinska kisjelina podređuje metabolizam domaćina u svoju korist. Ćelija obavlja replikaciju virusne DNK ili RNK, koja obezbjeđuje sintezu proteina virusa.

Sazrijevanje virusa je stvaranje nukleokapsida kombinovanjem nukleinske kisjeline i proteina.

Oslobađanje viriona iz ćelije može se vršiti na razne načine: razlaganjem (lizom) ćelije, što dovodi do smrti ćelije, zatim egzocitozom – pri kojoj virus od membrane ponese jedan dio kao svoj dodatni omotač i dr. Međutim, oslobođanje viriona može kod nekih DNK virusa da izostane. Takvi virusi ugrade svoju DNK u DNK domaćina i diobom se prenose na potomačke ćelije (virusna DNK se replikuje zajedno sa DNK domaćina) i nazivaju se **provirusi – latentni**, mirujući virusi. Ugrađeni u DNK domaćina, provirusi gube sposobnost da izazovu infekciju, ali se u određenim uslovima (pad imuniteta i sl.) ili spontano mogu ponovo aktivirati.



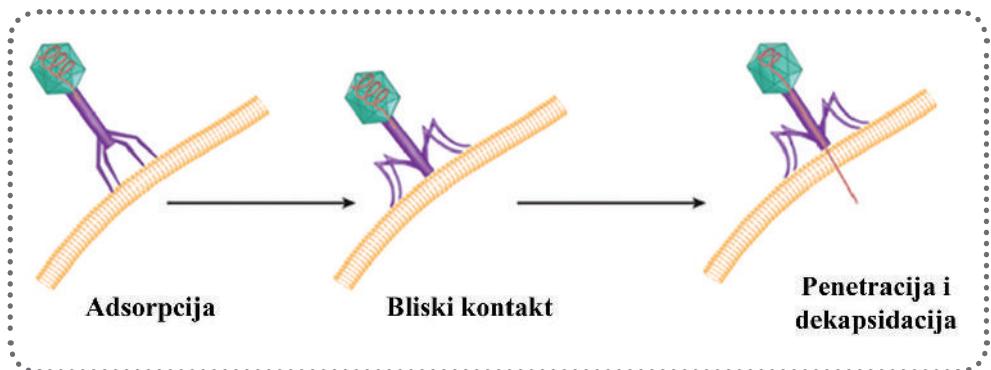
SLIKA 180 – Faze umnožavanja virusa

(<http://svet-biologije.com/biologija/mikrobiologija/virusi/umnozavanje-virusa>)

REPRODUKCIJA – UMNOŽAVANJE BAKTERIOFAGA

Bakteriofagi su specifični u odnosu na vrstu bakterija – napadaju samo određenu bakterijsku vrstu. Ukoliko dođe do oštećenja čelijskog zida bakterije ili blokiranja receptora na koje se bakteriofag pričvršćuje, bakteriofag ne može prepoznati i zaraziti bakterijsku ćeliju. Zahvaljući toj specifičnosti, moguće je utvrditi vrstu bakterija uz pomoć fagotipizacije – identifikacije bakteriofaga. Receptori za bakteriofage mogu biti fimbrije, flagle, površinski proteini, kapsula, murein i kod gram pozitivnih bakterija lipotejkonska kisjelina. Prema odnosu koji uspostave sa ćelijom, fagi mogu biti virulentni (obligatno litički) i umjereni (lizogeni fagi – profagi). Infekcija obligatno litičkim fagima dovodi do lize – razgradnje i smrti ćelije domaćina, dok umjereni fagi perzistiraju u bakterijskoj ćeliji. Lizogeni fag ne ubija ćeliju, ali može dovesti do promjena u njenim morfološkim, kulturnim, enzimskim, antigenskim i fiziološkim osobinama. Tako na primjer, netoksični sojevi nekih korinebakterija mogu postati toksični uslijed dejstva lizogenog bakteriofaga. Bakteriofag ima specifičnu građu; građen je od glave, vrata, repa, bazalne ploče i repnih vlakana – fibrila, što mu daje izgled topuza. Glava bakteriofaga sadrži nasljedni materijal DNK ili RNK. Bakteriofag je veoma malih dimenzija (20–300 nm).

Proces prodiranja litičnog faga u ćeliju i njegovo umnožavanje protiče u nekoliko faza: pripajanje (adsorpcija, slika 181), kontrakcija vrata, prodiranje i potiskivanje DNK u ćelijski sadržaj, sinteza virusnih komponenti, sazrijevanje virusa, razgradnja čelijskog zida i širenje virusa. Na proces **adsorpcije** vrlo značajno utiču spoljašnji faktori, najviše temperatura, ali i hemijski faktori. Adsorpciju mogu da povećaju joni dvovalentnih metala (magnezijuma i kalcijuma), a smanje žuč i ugljeni hidrati. Naredna faza je **prodiranje – penetracija** koja obuhvata ubacivanje nukleinske kisjeline u bakterijsku ćeliju uz pomoć enzima koji ulaze u sastav viriona – bakteriofaga. Bakteriofag svojim enzimima razlaže zid bakterije, praveći otvor, kroz koji zatim ubrizgava svoju nukleinsku kisjelinu (nalik ubrizgavanju tečnosti špricom za injekcije). Nakon penetracije, na površini bakterijske ćelije ostaje kapsid, pa se ovaj proces naziva i dekapsidacija. Nakon penetracije nukleinske kisjeline u bakterijsku ćeliju se odvija faza **sinteze virusnih komponenti**. Prvo dolazi do replikacije DNK bakteriofaga, koja obezbjeđuje sintezu proteina virusa. Na osnovu nukleinske kisjeline faga, sintetišu se proteini koji štite nukleinsku kisjelinu faga i proteini koji ometaju metaboličke procese u bakteriji; nakon toga slijedi sinteza proteina koji su uključeni u proces replikacije virusnog genoma, a sam kraj faze sinteze virusnih komponenti obuhvata sintezu strukturnih proteina viriona. U narednoj fazi dolazi do integracije – sklapanja virusnih partikula i sazrijevanja – maturacije virusne čestice. Na kraju ovog perioda moguće je uočiti zrele virione u bakterijskoj ćeliji spremne za izlazak iz ćelije. Ovo je poslednja faza umnožavanja bakteriofaga. Bakteriofagi se oslobođaju najčešće lizom ćelije domaćina uz pomoć svojih enzima peptidoglikan hidrolaza, kojima razgrađuju kovalentne veze u čelijskom zidu bakterija.



SLIKA 181 – Šematski prikaz adsorpcije i penetracije bakteriofaga u bakterijsku ćeliju

Umjereni fagi se ne umnožavaju u ćeliji i samim tim je i ne razgrađuju; oni perzistiraju – ostaju u bakterijskoj ćeliji tako što nakon infekcije integrišu svoj genom u bakterijsku DNK. Ovako inficirana bakterijska kultura naziva se lizogena, a DNK bakteriofaga koja se integriše u bakterijski genom naziva se profag. Profag se replikuje istovremeno sa bakterijskom DNK i prenosi se vertikalnim transferom gena – sa jedne generacije na sljedeću. Geni koji kodiraju sintezu proteina umjerene bakteriofaga se ne eksprimiraju – neaktivni su zbog uticaja represornog gena – koji inhibira ekspresiju gena za sintezu proteina. U određenim uslovima može doći do gubitka aktivnosti represornog proteina, nakon čega dolazi do isijecanja profaga iz DNK bakterije i početka litičkog ciklusa bakteriofaga. Proces inicijacije litičkog ciklusa umerenog faga naziva se indukcija; do indukcije mogu dovesti različiti nepovoljni faktori, kao što su UV zračenje, vodonik-peroksid itd.

KRETANJE MIKROORGANIZAMA

Pokretljivost mikroorganizama im omogućava veću rasprostranjenost i bolje preživljavanje u određenoj životnoj sredini. Kretanje mikroorganizama može biti pasivno i aktivno. **Pasivno kretanje** se odvija uz pomoć kretanja tečnosti u kojoj žive mikroorganizmi. **Aktivno kretanje** može biti: oscilatorno, klizeće, ameboidno i rotaciono. **Oscilatornim kretanjem** se pokreće alga *Oscillatoria spp.*, koja nema organele za kretanje, ali se pokreće zahvaljujući strujanju citoplazme u ćeliji. **Klizeće kretanje** je karakteristično za bakterije, kao što su *Cyanobacteria*, mrkožute alge i dr. Ovi mikroorganizmi izlučuju iz ćelije sluz po kojoj ćelija pliva mijenjajući položaj u prostoru. **Ameboidno kretanje** srijeće se kod protozoa iz klase *Rhizopoda*, koje se kreću pomoću pseudopoda. Brzina kretanja je mala i karakteristična za vrstu.

Rotaciono kretanje je karakteristično za mikroorganizme koji imaju bićeve i cilje za kretanje. Impulse i energiju dobijaju iz bazalnog zrna. Rotaciono kretanje može biti spontano i indukovano. Spontano kretanje je kretanje mikroorganizama u svim pravcima. Indukovano kretanje je kretanje mikroorganizama u jednom određenom pravcu, a može biti izazvano različitim faktorima spoljašnje sredine. Takva kretanja nazivaju se **taksije**. Ovo kretanje može biti izazvano hemijskim supstancama, svjetlosti, topotom i sl. Način i brzina kretanja zavise od broja i rasporeda organela za kretanje. Sa povećanjem gustine sredine u kojoj žive, smanjuje im se brzina kretanja. Flagele eukariota u toku kretanja se okreću kao propeleri, pri čemu prave talase i vuku ćeliju za sobom. Kod bakterija sa jednom flagelom kretanje je pravolinijsko, u jednom pravcu, zahvaljujući pokretima flagele koja se kreće kao propeler. **Amfifrihe** se kreću pravolinijski naprijed ili nazad. **Peritrihe** se kreću vijugavo na sve strane. Kod spiroheta je kretanje **zmijoliko**, jer nastaje naizmjeničnim skupljanjem i opružanjem aksijalne niti.

P I T A N J A

1. Šta se podrazumijeva pod rastom mikroorganizama?
2. Šta predstavlja generacijsko vrijeme?
3. Kako se izražava brzina rasta mikroorganizama?
4. Šta čini populaciju nekog mikroorganizma?
5. Na koje se načine može pratiti rast populacije mikroorganizama?
6. Prikaži grafički rast populacije mikroorganizama u određenom vremenskom periodu i objasni pojedine faze rasta.
7. Šta je kontinualni rast populacije nekog mikroorganizma i kako se može postići?
8. Šta je kolonija?
9. Koji načini razmnožavanja postoje kod mikroorganizama i objasni ih?
10. Koji su načini bespolnog razmnožavanja mikroorganizama i objasni ih?
11. Koje bespolne spore mogu stvarati gljive?
12. Koji su načini polnog razmnožavanja mikroorganizama i objasni ih?
13. Koje polne spore mogu stvarati gljive?
14. Objasni reprodukciju virusa.
15. Koje su faze prodiranja i reprodukcije faga?
16. Kako se mogu kretati mikroorganizmi?
17. Kako se kreću amfitrihe, lofotrihe i peritrihe?

GENETIKA MIKROORGANIZAMA

Genetika mikroorganizama je bazirana na istim osnovama kao i kod viših organizama: na hromozomu, dezoksiribonukleinskoj kisjelini i genu.

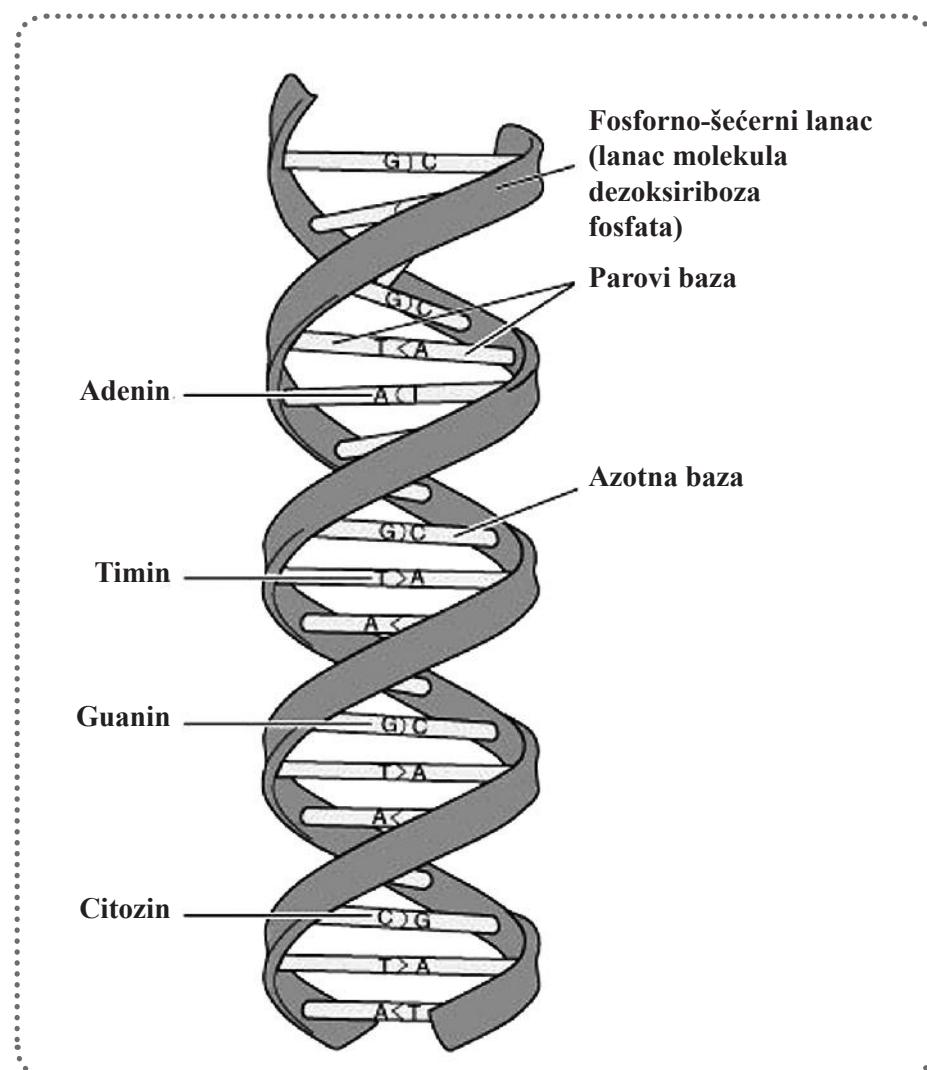
HROMOZOMI EUKARIOTSKIH ORGANIZAMA

Hromozomi eukariotskih organizama su složenje građe od cirkularnih hromozoma prokariotskih ćelija. Sastoje se od dezoksiribonukleinske kisjeline (DNK), male količine ribonukleinske kisjeline (RNK), baznih proteina histona male molekulske mase i složenijih nehistonskih proteina. Kompleks DNK i proteina u jedru se naziva **hromatin** – u metafazi ćelijskog ciklusa hromatin se organizuje u hromozome. Osnovu strukture hromatina čini hromatinsko vlakno koga čini DNK povezana histonima. Histonii predstavljaju najznačajnije strukturne proteine hromatina i imaju ulogu u stabilizaciji dvostrukog lanca DNK sa kojom su direktno povezani. Histonii čine veliki dio mase hromatina. Odnos histona i DNK u hromatinu je približno 1:1. Ovi proteinii sadrže visok procenat aminokiselina lizina i arginina. Na svakih 10 nm hromatinske niti se ponavlja struktura građena od osam molekula histona i oko 200 nukleotidnih parova. Ova ponavljajuća struktura predstavlja osnovnu jedinicu strukture hromozoma i naziva se **nukleozom**. U hromozomu se nalaze i enzimi koji učestvuju u metabolizmu nukleinskih kisjelina (DNK polimeraza, RNK polimeraza, endonukleaza, ligaza i dr.). Kod eukariotskih mikroorganizama, u zavisnosti od vrste, nalazi se diploidni broj hromozoma – diploidna hromozomska garnitura. To znači da ćelije eukariotskih mikroorganizama imaju dva genoma, tj. broj hromozoma je dva puta veći od broja hromozoma u gametima – polnim, reproduktivnim ćelijama kojima se razmnožavaju – reprodukuju. DNK hromozoma eukariotskih organizama ima oblik linearog dvostrukog heliksa (linerani oblik – oblik prave linije).

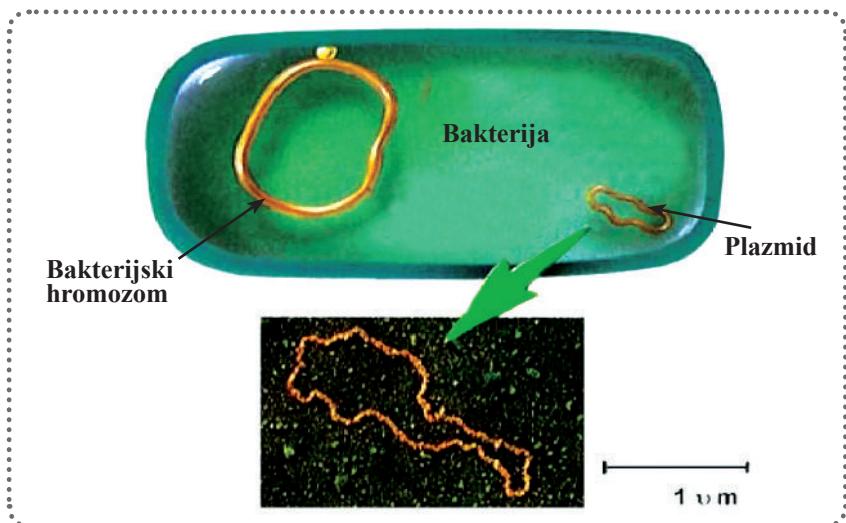
HROMOZOMI PROKARIOTSKIH ORGANIZAMA

U ćeliji prokariotskih mikroorganizama nalazi se samo jedan hromozom, izgrađen od jednog dvostrukog spiralnog lanca DNK u obliku prstena – haploidna hromozomska garnitura (slike 182 i 183). DNK prokariota u vidu prstena (kružna, cirkularna DNK) nastaje spajanjem krajeva dvostrukog lanca DNK. DNK u vidu prstena se nalazi i kod plazmida – ekstrahromozomskih molekula DNK koji se nalaze u citoplazmi bakterija. Hromozom prokariota ne sadrži proteine histone. Međutim, smatra se da hromozom prokariota sadrži oko 10% proteina, od kojih su neki vrlo slični histonima. Hromozom prokariota sadrži i oko 30% RNK.

Genetske informacije kod virusa može da nosi DNK ili RNK. U virusima su nađena četiri tipa nukleinskih kisjelina: dvolančana DNK, jednolančana DNK, dvolančana RNK i jednolančana RNK. Virusi sadrže DNK ili RNK, za razliku od svih ostalih organizama koji sadrže obadvije nukleinske kisjeline. Jedinstvena osobina virusa je i da RNK može biti nosilac genetskih osobina. Virusni genom – molekul DNK ili RNK, može biti linearan ili cirkularan, ali je češće linearnog oblika. Neki virusi imaju veoma male genome (sa manje od 5 gena). Genomi nekih virusa su građeni od dva ili više molekula.



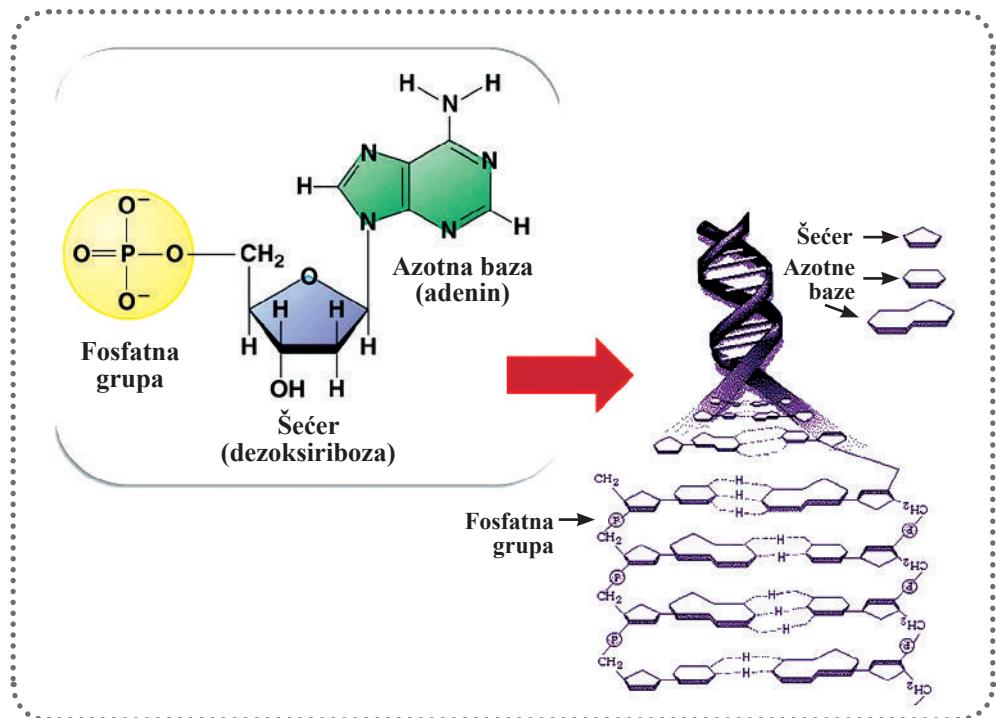
SLIKA 182 – Građa dezoksiribonukleinske kisjeline (DNK)



SLIKA 183 – Šematski prikaz bakterijskog hromozoma i plazmida
(<https://sandwalk.blogspot.com/2009/03/on-evolution-of-bacterial-chromosomes.html>)

GRAĐA BAKTERIJSKOG HROMOZOMA

Molekul DNK se sastoji od dva polinukleotidna lanca, koji su uvijeni jedan oko drugog čineći dvojnu spiralu. Polinukleotidni lanci se sastoje od 1500 do 5.000.000 nukleotida. Jedan nukleotid – mononukleotid se sastoji iz jednog molekula šećera pentoze – dezoksiriboze, fosfatne grupe i azotne baze (purinske – adenin i guanin i pirimidinske – timin i citozin, slika 184). U odnosu na građu nukleotida DNK, u sastav nukleotida RNK se umjesto šećera dezoksiriboze nalazi pentoza šećer riboza, a umjesto pirimidinske baze timina – pirimidinska baza uracil.



SLIKA 184 – Nukleotid – osnovna jedinica grade DNK molekula

(<http://svet-biologije.com/biologija/mikrobiologija/bakterije/genetika–bakterija>)

Jedinjenje koje nastaje od azotne baze i šećera dezoksiriboze naziva se **nukleozid**. Azotna baza i šećer dezoksiriboza su u nukleozidu vezane N-glikozidnom vezom. Kada se za nukleozid veže fosfatna grupa nastaje **nukleotid**. Nukleotidi se međusobno povezuju i grade polinukleotidni lanac. Veze između nukleotida u tom lancu su fosfodiesterne. Dva polinukleotidna lanca su povezana vodoničnim mostovima koji se formiraju između azotnih baza: timin jednog lanca se dvostrukom vodoničnom vezom vezuje za adenin drugog lanca i guanin jednog lanca trostrukom vodoničnom vezom za citozin drugog lanca. Redoslijed nukleotida DNK predstavlja njenu primarnu strukturu i specifičan je za svaku vrstu. Osnovu sekundarne strukture čini dvolančana zavojnica (spirala). Prečnik jednog zavoja DNK iznosi 2 nm, a svaki zavoj se sastoji iz deset parova nukleotida čija je dužina 3,4 nm. Purinske i pirimidinske baze se nalaze u unutrašnjosti zavojnice, dok su fosfatne grupe okrenute prema spoljašnjoj strani i zajedno sa pentozama čine skelet zavojnice.

Lanac DNK se sastoji iz manjih segmenata – **gena**. Gen u sebi sadrži jedan ili više parova nukleotida. Gen je osnova nasljeđivanja, određuje redoslijed povezivanja aminokiselina u polipeptidnom lancu, odnosno određuje strukturu proteina. Genet-

ska informacija koju gen nosi zapisana je u vidu redoslijeda nukleotida. Svaki gen sadrži informaciju za sintezu jednog proteina. Proteini su strukturalna – gradivna jedinjenja ćelije; regulatori su metabolizma i pomoći njih se ostvaruju mnoge vitalne ćeljske funkcije. Proces sinteze proteina koji se zasniva na prenošenju šifrovanih informacija sa DNK na informacionu RNK, sa informacione RNK na ribozome i sa ribozoma na transportnu RNK, predstavlja centralnu dogmu molekularne biologije. To znači da redoslijed baza u DNK određuje redoslijed baza u iRNK, a redoslijed baza u iRNK određuje redoslijed aminokiselina u proteinu. Centralna dogma se dakle bazira na tri procesa: **replikaciji** – kopiranje DNK u drugi, komplementarni lanac DNK, **transkripciji** – kopiranje DNK na iRNK i **translaciji** – sinteza proteina na osnovu informacija sa iRNK. To ukazuje da se prenošenje genetičkih informacija sa generacije na generaciju vrši replikacijom, a unutar same ćelije transkripcijom i translacijom. Kod nekih virusa postoje odstupanja od centralne dogme. Kod njih se RNK prvo prepisuje u DNK, a tek nakon toga dolazi do procesa transkripcije (prepisivanja informacija) i translacije (sinteze proteina). Retrovirusi, jednolančani RNK virusi, koristeći ćeliju domaćina prepisuju svoju RNK na DNK, a zatim tu DNK ugrađuju u DNK ćelije domaćina; ćelija domaćin zatim po uputstvima DNK ovog virusa sintetiše nove virusne čestice.

Kontinuitet vrste kod prokariota održava se prostom diobom (amitozom), a kod eukariota mitozom i mejozom. Prije svake ćeljske diobe odvija se proces replikacije – udvajanja nasljednog materijala. U cilju vjerodostojnog prenošenja nasljednih informacija sa roditeljskih na kćerke ćelije replikacija DNK se odvija sa velikom preciznošću. Replikacija se dešava na semikonzervativan način. To podrazumijeva da svaki lanac u molekulu DNK predstavlja matricu za nastanak novog lanca – zato je u novonastalim ćelijama DNK građena od jednog roditeljskog i jednog novosintetisanog lanca. Prilikom replikacije se mogu desiti greške u redoslijedu nukleotida. Ove greške ćelija ispravlja uz pomoć sistema za reparaciju. Međutim, ako ovaj sistem ne uspije ove greške da ukloni, one postaju nasljedne mutacije. Transkripcija se kod prokariota odvija u citoplazmi, a kod eukariota u jedru.

Skup svih gena u jednoj ćeliji naziva se **genom**. Genotip predstavlja genetičku konstituciju koja uslovjava fizički izgled, odnosno fenotip. Fenotip predstavlja sveukupnost osobina koje karakterišu jedan organizam. Nastaje kroz interakciju genetičkih činilaca koji determinišu razviće ovih osobina i faktora sredine.

Adaptacija predstavlja prilagođavanje mikroorganizama na nove uslove života. Pod adaptacijom se podrazumijeva sticanje novih osobina koje omogućuju mikroorganizmu da se održi, živi i razmnožava u promjenljivim uslovima sredine. Najčešće se mijenjaju morfologija ćelije, morfologija kolonije, biohemski svojstva, metabolički procesi, osjetljivost prema antibioticima. Ukoliko se neka jedinka ili populacija ne može prilagoditi novim uslovima, dolazi do njenog propadanja, što dovodi do

prirodne selekcije. Adaptacija mikroorganizama vrši se **modifikacijom i mutacijom**. Modifikacije su promjene koje nastaju u fenotipu, ali u granicama genotipa. Nastale promjene su adekvatne jačini djelovanja faktora, a najčešće su posljedica izmjena reakcije sredine, osmotskog pritiska, ishrane i dr. Pojava se manifestuje u vidu izmjene fenotipskih karakteristika, kao što su: boja kolonije, oblik i veličina, gubitak ili dobijanje sposobnosti stvaranja spora i flagela. Najveći dio modifikacija odvija se pomoću inducibilnih enzima za koje postoje genetske mogućnosti, ali koji se sintetišu samo kad se za njih ukaže potreba. Modifikacijom su obuhvaćene sve jedinke jedne populacije ako se nađu u istim uslovima.

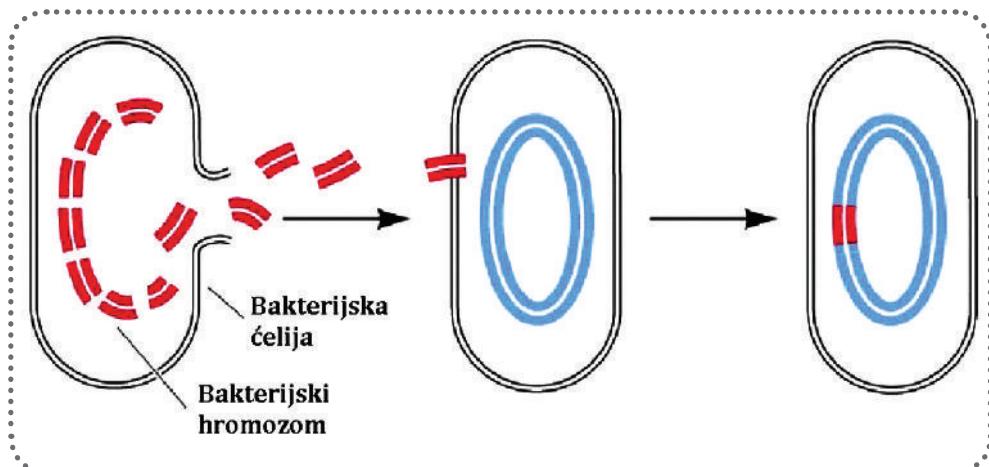
Mutacije su promjene koje se dešavaju u hromozomu. Baziraju se na izmjenama u redoslijedu baza unutar nukleotida, a to uslovljava izmjenu u sintezi proteina i promjenu karakteristika potomstva u odnosu na roditelje, odnosno nastaje genetski izmijenjena populacija. **Spontane mutacije** su genotipske promjene koje se dešavaju u prirodi iz nepoznatih razloga. U okviru populacije, neke jedinke dobijaju nove osobine koje se dalje prenose na potomstvo, a ako se nađu u povoljnim uslovima one se sve više razvijaju. Poslije izvjesnog vremena mutantne jedinke dominiraju, što je rezultat prirodne selekcije. **Indukovane mutacije** se dešavaju pod uticajem poznatih fizičkih i hemijskih agenasa (X zraci, azotna kiselina, pesticidi i dr.). **Povratna (supresorska) mutacija** se dešava ukoliko se kod potomstva ponovo uspostavi početni redoslijed baza, a samim tim i vraćanje prvobitnih svojstava. Mutacije su našle praktičnu primjenu u dobijanju sojeva sa novim osobinama, kao što su pojačana azotofiksaciona sposobnost, sinteza antibiotika, bolje korišćenje supstrata, rezistentnost prema pesticidima i dr.

PRENOŠENJE GENETSKIH INFORMACIJA KOD BAKTERIJA

Prenošenje genetskog materijala sa jedne generacije na drugu koje se dešava prilikom razmnožavanja bakterija (najčešće prostom diobom) označava se kao – **vertikalni transfer gena**. Pri tome nastaju kćerke ćelije koje su genotipski identične majci ćeliji. Prenošenje genetskog materijala se dešava i između bakterija istih ili različitih vrsta, što se naziva **horizontalni transfer gena**. **Horizontalni transfer gena** kod bakterija se vrši procesima: *transformacije*, *transdukcije* i *konjugacije*. Recipijent (primalac) je bakterija u čiji se genetski materijal integriše DNK druge bakterije, a **donor** (davalac) je bakterija čiji se DNK integriše u drugu bakteriju.

Transformacija

Transformacija predstavlja prenošenje dijela DNK iz mrtvih ćelija davaoca u živu ćeliju primaoca (slika 185).



SLIKA 185 – Transformacija

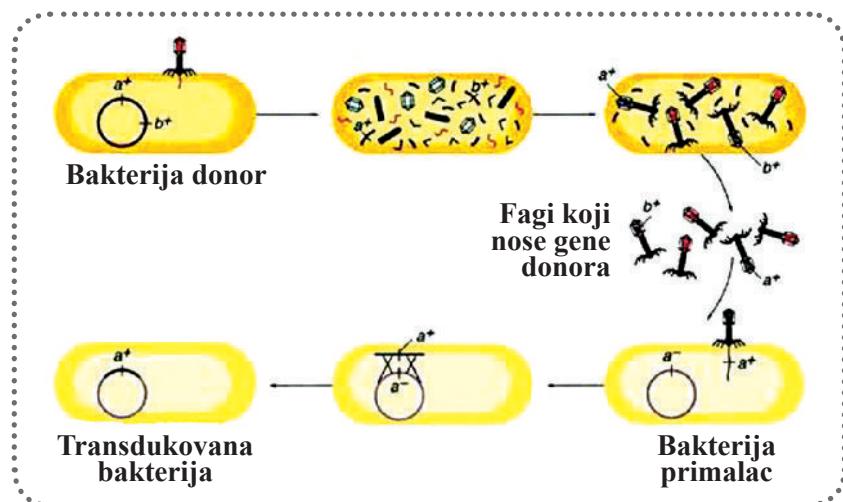
Taj fragment DNK se veže za odgovarajuće mjesto na DNK primaoca i daje nove osobine jedinku. Dio DNK na čije mjesto je došla nova genetska informacija se prethodno razgrađuje.

Ako se ovaj proces dešava unutar iste vrste, zove se **homotransformacija**, a između različitih vrsta **heterotransformacija**. Proces se redovno odvija u zemljištu i drugim prirodnim sredinama, jer se tamo mnoštvo ćelija raspada i oslobađaju se djelovi DNK, koji se onda ugrađuju u nove ćelije. U laboratoriji se transformacija može izazvati kultivacijom bakterija na liziranim ćelijama. Ako se zajedno gaje bakterije bez ćelijskog zida, onda je proces olakšan, jer djelovi DNK lakše difunduju u ćeliju.

Prenošenje genetskog materijala bakterija putem transformacije otkrio je 1929. godine britanski naučnik Frederik Grifit (Frederick Griffith, 1879–1941) tokom proučavanja S i R sojeva bakterije *Streptococcus pneumoniae*. **S soj** formira glatke i sjajne kolonije sa kapsulom i patogen je, a **R soj** formira hrapave kolonije, nema kapsulu i nije patogen. Ukoliko se S soj prethodno ubije kuvanjem, ne može izazvati zapaljenje pluća miša. Kada se živi R soj koji nije patogen pomiješa sa patogenim S sojem koji je prethodno ubijen kuvanjem, dolazi do oboljenja i smrти miša. Razlog je taj što se nakon ubijanja S soja oslobođila njena DNK. Žive ćelije R soja su usvojile fragmente oslobođene DNK ubijenog S soja, u kojima se nalaze i geni odgovorni za stvaranje kapsule. Na taj način je R soj dobio osobinu S soja – postao je patogen, tj. sposoban da izazove bolest.

Transdukacija

Transdukacija predstavlja prenošenje bakterijskih gena uz pomoć virusa bakterija – **bakteriofaga**. Virusi bakterija – fagi (bakteriofagi) se nalaze u skoro svim vrstama bakterija i specifični su u odnosu na domaćina. U transdukciiji učestvuje tzv. umjereni fag koji ne izaziva lizu ćelije i ne umnožava se u ćeliji domaćina. Fag otkida djelić DNK donora, zatim ulazi u ćeliju akceptora i ugraduje se u njegov hromozom. Na taj način nastaju jedinke sa novim osobinama koje se dalje prenose na potomstvo (slika 186).



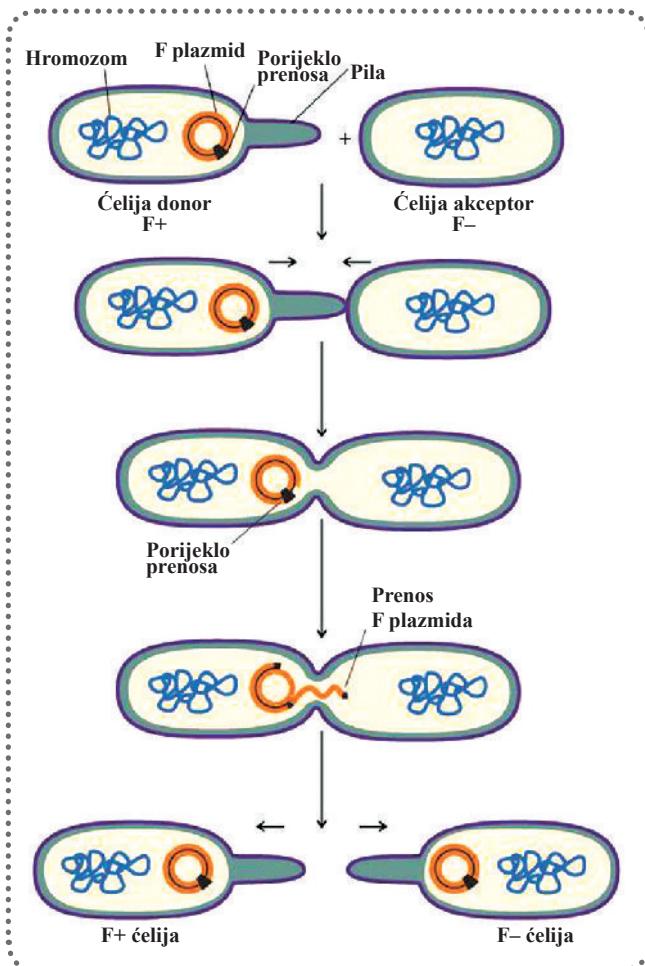
SLIKA 186 – Transdukacija

Transdukacija se odvija u prirodnim uslovima spontano, ali se može izazvati u laboratorijskim raznim mutagenim agensima. Transdukacija može biti **generalizovana i specijalizovana**. **Generalizovana transdukacija** predstavlja prenošenje bilo kog dijela DNK ćelije domaćina posredstvom bakteriofaga. Prilikom sazrijevanja bakteriofaga u ćeliji domaćina, u kapsid bakteriofaga se greškom može upakovati dio DNK bakterije. Nakon lize bakterijske ćelije fag se sa dijelom DNK bakterije (*transdukcioni fag*) oslobađa iz ćelije. Tokom infekcije druge bakterijske ćelije, u ćeliju, umjesto DNK bakteriofaga, ulazi dio DNK prethodnog domaćina. DNK prethodnog domaćina se rekombinuje sa genetskim materijalom novog domaćina. Ovaj fag se naziva *defektni fag* i ne može da izazove uobičajenu infekciju bakterijske ćelije. **Specijalizovana transdukacija** predstavlja prenošenje tačno određenog dijela DNK domaćina uz pomoć bakteriofaga. Otkrivena je kod bakterije *Escherichia coli*. Kod ove vrste transdukciije bakteriofag se integriše u genom bakterije na tačno određenom mjestu. DNK bakteriofaga se replikuje zajedno sa genomom bakterije, sve do momenta dok se DNK bakteriofaga ne isiječe iz genoma. Dešava se da se DNK bakteriofaga isiječe pogrešno, tako da se pored DNK

bakteriofaga isiječe i dio DNK domaćina koji nosi određene gene. Prilikom infekcije nove bakterijske ćelije ovim bakteriofagom, inficirana bakterijska ćelija dobija neke osobine prethodnog domaćina. Ova pojava se naziva **konverzija fagom**.

Konjugacija

Konjugacija predstavlja prenošenje genetskog materijala neposrednim kontaktom dviće ćelije (slika 187). Da bi se proces obavio, potrebne su ćelije koje posjeduju faktor fertiliteta (F^+ faktor). F^+ faktor (F^+ plazmid) posjeduje dvostruki lanac DNK u vidu prstena i ima manji broj nukleotida od prstena DNK hromozoma. Na ovom prstenu nađeni su geni koji određuju formiranje proteina za seksualne fimbrije i geni koji određuju sposobnost konjugacije. Preko pile F^+ ćelija se spoji sa F^- ćelijom i kroz šupljinu pile faktor se prenese iz donora u recipient. Nakon toga F^- ćelija postane F^+ .



SLIKA 187 – Konjugacija

PRIMJENA GENETIČKOG INŽENJERINGA KOD MIKROORGANIZAMA

Genetički inženjering predstavlja vještačko prenošenje stranih gena u postojeće genome ćelija, pri čemu nastaju **novi genotipovi**. Na taj način je omogućeno da se genomi čak vrlo udaljenih organizama mogu kombinovati i stvarati genomi sa novim osobinama. Učinjeni su mnogobrojni pokušaji u prenošenju gena iz viših organizama u mikroorganizme. Tako su u genom bakterije *E. coli* ugrađeni geni čovjeka koji u bakterijskim ćelijama kodiraju sintezu raznih enzima, insulina, hormona rasta i interferona. Mnogi geni iz životinjskih ćelija preneseni su u bakterijske, a geni bakterija ugrađivani su u eukariotske ćelije. Rekombinacija gena i stvaranje novih genotipova se vrši **primjenom enzima** koji sijeku DNK na određenom mjestu i prenošenjem tog dijela DNK od donora na primaoca. Za prenošenje genetskog materijala služe vektori, a to su **plazmidi i virusi**.

Plazmidi kao vektori gena

Plazmidi su **mali DNK molekuli** koji sadrže 2–250 gena, samostalno se umnožavaju u bakterijama i nasljeđuju u njihovim potomcima. Nose gene za otpornost prema jednom ili više antibiotika, gene za azotofiksaciju itd. Prenošenje plazmida iz jedne u drugu ćeliju se može vršiti **pomoću faga i transformacijom**. Ako se primjenjuje transformacija, ćelije se prethodno drže u rastvoru kalcijumhlorida kako bi im se povećala propustljivost membrane. Nakon toga, u njihovu unutrašnjost može prodrijeti izvjestan broj plazmida iz spoljne sredine. Bakterije koje prime plazmid se selektišu na osnovu svojstva koje se želi dobiti.

Virusi kao vektori gena

Kao vektori gena koriste se bakterijski virusi – **bakteriofagi i biljni virusi**. Bakteriofagi su virusi bakterija koji mogu biti litički (virulentni) i lizogeni (umjereni). Lizogeni bakteriofag u prirodi ima veliku ulogu u razmjeni genetskih informacija među bakterijama koje pripadaju jednoj ili raznim vrstama. Oni su pored bakterijskih plazmida najuspješniji vektori gena u genetičkom inženjeringu. Značajniji rezultati u primjeni genetičkog inženjeringa u mikrobiologiji postignuti su u oblasti biološke azotofiksacije. Pošto je biološka azotofiksacija po značaju odmah iza fotosinteze, istražuju se mogućnosti ugradnje gena iz mikroorganizama aktivnih azotofiksatora u genome drugih mikroorganizama i viših biljaka koje bi na taj način obezbjeđivale azot.

GENOTIPSKA IDENTIFIKACIJA BAKTERIJA

Svaki rod i vrsta bakterija se karakteriše određenom nukleotidnom sekvencom genoma. Na osnovu te sekvence, može se izvoditi njihova identifikacija otkrivanjem djelova DNK ili RNK različitim molekularnim metodama (PCR – lančana reakcija polimerazacije, hibridizacija DNK i dr.). Sekvenca nukleotidnih baza u genu koja kodira **16 S ribozomalnu RNK** je osnovni kriterijum za determinaciju vrste bakterija. Poredenjem sekvenci između različitih vrsta, utvrđuje se njihova evolutivna srodnost i formira filogenetsko stablo.

PCR REAKCIJA

PCR (*Polymerase Chain Reaction* – lančana reakcija DNK polimeraze) je *in vitro* amplifikacija (umnožavanje, replikacija) definisane DNK sekvence. Reakcija koristi dva oligonukleotida (prajmera) koji su komplementarni krajevima sekvene koja se umnožava i koji su međusobno suprotno orijentisani. Sinteza DNK je katalizovana termostabilnom DNK polimerazom. Region koji se umnožava je određen izborom prajmera. Prajmeri su kratki lanci oligonukleotida (obično 20–30), čija sekvenca odgovara krajevima regiona od interesa. Amplifikacija se dešava tokom većeg broja ciklusa (30–40). Jedan ciklus PCR reakcije čine: faza **denaturacije DNK matriće** (razdvajanje dvostrukog DNK lanca), faza **hibridizacije** (vezivanja) prajmera i faza **elongacije** (produžavanja) komplementarnih lanaca DNK ciljne sekvene. Za vrijeme svakog ciklusa, u prvoj fazi PCR, dvolančana DNK – matrica se denaturiše zagrijavanjem i stvaraju se jednolančane DNK. Ovo obezbeđuje aktivno mjesto za DNK polimerazu koja vrši sintezu komplementarnog lanca, stvarajući ponovo dvolančanu DNK. Najčešće korišćen od ovih enzima je **Taq DNK polimeraza** po riječkom iz bakterije *Thermus aquaticus*. Termostabilnost enzima je neophodna, jer se na početku svakog PCR ciklusa dvostruki lanac DNK denaturiše do jednolančane forme primjenom visoke temperature od 93 do 96°C u reakcionoj tubi. Nakon hlađenja, nastupa druga faza PCR ciklusa koja se sastoji u vezivanju prajmera za specifične komplementarne sekvene, sada jednolančanog, ciljnog dijela DNK molekula. Prajmeri omogućavaju DNK polimerazi da započne sintezu novog lanca. Ovo je faza vezivanja prajmera i odvija se na temperaturi od 65 do 75°C. Treća faza ciklusa je faza produženja lanca ili elongacija pri temperaturi oko 72°C, kod koje dolazi do vezivanja baza iz reakcione smješte, komplementarnih ciljnoj sekvenci. Nakon ove faze, dolazi do odvajanja prajmera i obustavljanja produžetka lanca, a kao rezultat dobijaju se dvije kopije želenog segmenta DNK. U sljedećim ciklusima prajmeri će se vezivati i za originalnu i za novosintetizovanu DNK, što rezultira eksponencijalnim povećanjem broja kopija. Broj umnoženih fragmenata u PCR-u eksponencijalno raste, jer svaki novosintetisani lanac u sljedećem ciklusu služi kao matrica za sintezu DNK. Za približno dva sata dobija se 10^6 do 10^9 kopija određenog DNK fragmenta.

PCR metoda se izvodi u mikrotubi zapremine 0,2–0,5 ml u PCR mašinama – termosajklerima. Rezultati PCR-a se detektuju na agaroznom gelu elektroforezom i bojenjem.

Osnovni zahtjev koji se postavlja za prajmere je da su **specifični** za organizme koji su od interesa. To znači da se sekvene gena nalaze samo u ciljnog organizmu i da pod datim uslovima eksperimenta ne daju nespecifičnu reakciju. Detekcija ciljne sekvene PCR metodom može se obaviti za jedan dan, što je velika prednost u identifikaciji onih infektivnih agenasa kojima je potrebno dugo vremena za rast na odgovarajućoj podlozi. PCR metodom najčešće se vrši **detekcija virusa, nekih bakterija** (*Mycobacterium tuberculosis*, hlamidije) i dr. Nedostatak PCR metode je nemogućnost razlikovanja DNK molekula živih i mrtvih ćelija.

PITANJA

1. Šta predstavlja gen i koje su mu osnovne karakteristike?
2. Koliko hromozoma imaju bakterije?
3. Iz čega je građen bakterijski hromozom?
4. Iz čega je građen hromozom eukariotskih mikroorganizama?
5. Šta se podrazumijeva pod adaptacijom mikroorganizama?
6. Šta su plazmidi?
7. Šta su modifikacije?
8. Šta su mutacije?
9. Kako se može vršiti prenošenje genetskih informacija kod bakterija i objasni pojedine načine?
10. Šta je genetički inženjering i gdje je našao primjenu?
11. Na osnovu čega se vrši genotipska identifikacija bakterija?
12. Šta je PCR reakcija?
13. Šta čini jedan ciklus PCR reakcije?
14. Šta je prednost, a šta nedostatak PCR metode?

SISTEMATIKA MIKROORGANIZAMA

Sistematika (taksonomija) je nauka koja svrstava, odnosno raspoređuje (klasificuje) mikroorganizme po određenim grupama na osnovu njihovih srodničkih osobina. Tako stvorene grupe se nazivaju **taksonima**, taksonomskim grupama, jedinicama ili kategorijama. Ti taksoni sačinjavaju **hijerarhijski sistem**, jedan niz uzajamno potčinjenih taksona od jedinke do nadcarstva živog svijeta.

Svrstavanje mikroorganizama (kao i svih živih organizama na zemlji) je izvršeno u taksonomske grupe. Idući od najšire, to su:

- nadcarstvo (*dominium*), grupa srodnih carstava,
- carstvo (*kingdom, regnum*), grupa srodnih razdjela,
- grana, razdio, stablo (*phylum, division*), grupa srodnih klasa,
- klasa (*classis*), grupa srodnih redova,
- red (*ordo*), grupa srodnih familija,
- familija (*familia*), grupa srodnih rodova,
- rod (*genus*), grupa srodnih vrsta i
- vrsta (*species*), grupa mikroorganizama sličnih osobina.

Pored osnovnih taksonomskih kategorija, uvođe se i dopunske taksonomske kategorije dodavanjem prefiksa **sub** (pod) i **super** (nad). Osnovna taksonomska kategorija je **vrsta**, koja definiše osobine po kojima se mikroorganizmi razlikuju jedan od drugog. U istu vrstu spadaju mikroorganizmi koji imaju više od 70% istih svojstava. Mikroorganizmi koji pripadaju istoj vrsti, ali se po nekim svojstvima razlikuju, označavaju se kao **soj**. Fiziološke ili biohemijske razlike između sojeva označavaju se kao **biovar (bv.)**, morfološke razlike kao **morfobar (mv.)**, serološke – kao **serovar (sv.)**.

Svrstavanje mikroorganizama u sistematske kategorije vrši se na osnovu ispitivanja: morfoloških, fizioloških i metaboličkih svojstava, zahtjeva prema ekološkim faktorima, načina polnog razmnožavanja, sastava i sadržaja proteina, odnosa baza u DNK i na osnovu genske mape.

Podaci o genotipu mikroorganizama dobijaju se uz pomoć dvije osnovne metode analize izdvojenih nukleinskih kiselina, a to su: 1. određivanje **nukleotidnog sastava DNK** i 2. izučavanje hemijske **hibridizacije nukleinskih kiselina** različitih mikroorganizama.

Prvom metodom, na osnovu odnosa parova purinskih i pirimidinskih baza u molekulu DNK, utvrđuju se genetičke razlike između grupa mikroorganizama. Drugi metod omogućava da se utvrdi homologija DNK pri hibridizaciji parova ispitivanih DNK molekula izdvojenih iz različitih mikroorganizama. Ako postoji visoki stepen povezivanja DNK molekula (80–90% i više), govori se o homologiji primarne strukture i bliskom genetičkom srodstvu mikroorganizama (filogenetske veze). Nizak stepen homologije (50%) ukazuje na udaljene veze između mikroorganizama. Hibridizacija DNK predstavlja proces u kome se dva polinukleotidna lanca po principu komplementarnosti azotnih baza povezuju vodoničnim vezama. Kod filogenetski bližih organizama veći dio DNK hibridizuje, dok je kod udaljenih hibridizacija manje efikasna. DNK čovjeka hibridizuje sa DNK šimpanze 95%, DNK miša 13% i DNK bakterija 0,15%.

Uzimajući u obzir kriterijume za sistematiku mikroorganizama, svi mikroorganizmi su podijeljeni u dva nadcarstva: *Prokaryota* i *Eukaryota*, koja obuhvataju pet carstava: *Bacteria* (*Eubacteria*) i *Archaea* – pripadaju nadcarstvu *Prokaryota* i *Chromista*, *Protozoa* i *Fungi* (grč. *Mycota*) – nadcarstvu *Eukaryota*.

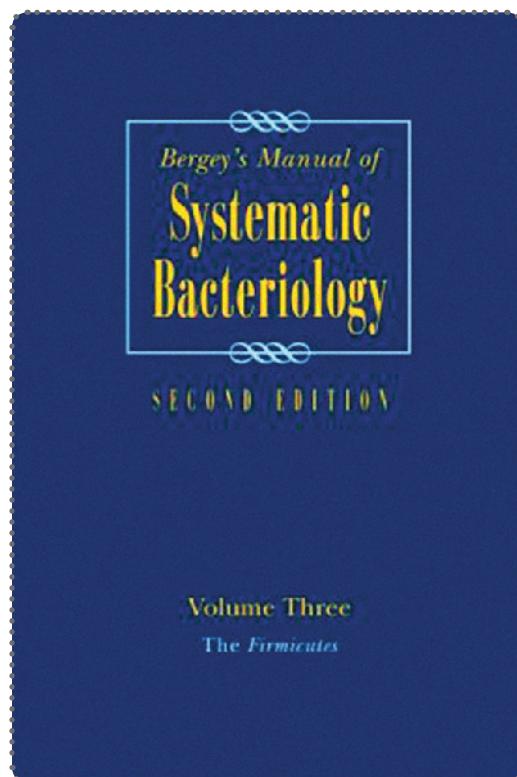
Posebno carstvo je carstvo *Virus* (*Viralia*), jer virusi nemaju ćelijsku građu. Postoje i subvirusne čestice, kao što su: virus-sateliti, viroidi, virusoidi i infektivni proteini – prion proteini.

Nomenklatura predstavlja sistem davanja imena mikroorganizmima prema međunarodnim nomenklaturalnim propisima. Mikroorganizmi svoje nazive dobijaju prema **binominalnom (binarnom) sistemu** nomenklature. Ime mikroorganizma je sastavljeno iz **dvije riječi** na latinskom jeziku: prva označava **rod**, a druga naziv **vrste**. Prva riječ koja označava naziv roda je obično latinskog porijekla, piše se velikim slovom i opisuje neko morfološko ili fiziološko svojstvo mikroorganizma ili prezime naučnika koji je otkrio taj mikroorganizam ili naročito karakteristično svojstvo, npr. mjesto življenja. Druga riječ koja označava naziv vrste se piše malim slovom i po pravilu predstavlja izvedenu riječ od imenice koja opisuje boju kolonije, porijeklo mikroorganizama, procese ili bolesti koje taj mikroorganizam izaziva i neka druga karakteristična svojstva. U štampanom tekstu naziv mikroorganizma se piše kurzivom (primjer: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus albus*). Na primjer *Bacillus albus* (naziv roda *Bacillus* – označava gram pozitivne sporogene štapiće, naziv vrste *albus* označava boju kolonije (*albus* – bijel). Naziv rodu *Escherichia* je dat u čast bakteriologa Teodora Eshericha, koji je prvi otkrio i opisao ovu bakteriju 1885. g., a naziv vrste potiče od latinske riječi *colon*, što znači debelo crijevo, jer se *Escherichia coli* uvijek nalazi u debelom crijevu ljudi i životinja. Ukoliko naziv vrste potiče od imena nekog istraživača, piše se takođe malim slovom. Poslije naziva mikroorganizma piše se ime naučnika koji ga je prvi

opisao, kao i godina kada je opisan. Na primjer: *Staphylococcus aureus* Rosenbach, 1884. Ako je naziv kasnije promijenjen, u tom slučaju ime naučnika koji ga je prvi opisao ide u zagradu, a ime naučnika koji je dao novi naziv se piše nakon toga. Na primjer: *Streptococcus agalactiae* (Nocard and Mollereau, 1887) Lehmann and Neumann, 1896, *Escherichia coli* (Migula, 1895) Castellani and Chalmers, 1919.

OSNOVNA SVOJSTVA I SISTEMATIKA CARSTVA BAKTERIJA (CARSTVO *BACTERIA*)

Prvu klasifikaciju bakterija je uradio naučnik David Hendricks Bergey 1923. godine, na osnovu njihovih morfoloških i biohemijskih osobina. Isti naslov nose sva naredna izdanja sistematike bakterija do danas – *Bergey's Manual* (Baltimore, USA, slika 188).



SLIKA 188 – Berdžijev (Bergey's) priručnik za identifikaciju bakterija
(http://www.nhbs.com/bergeys_manual_of_systematic_bacteriology_volume_2_3_tefno_22202.html)

Carstvo bakterija (eubakterije, prave bakterije) je ranije bilo podijeljeno na četiri razdjela: *Gracilicutes*, *Firmicutes*, *Tenericutes* i *Mendosicutes*. Podjela na razdjеле (grane) je bila izvršena uglavnom na osnovu **prisustva ili odsustva čelijskog zida i njegove grade**, a na klase, redove, familije, rodove i vrste – prema **morfološkim i fiziološko-biohemiskim svojstvima**. Razdjelu *Gracilicutes* (lat. *cutis* – koža, *gracilis* – tanak, vitak) su pripadale gram negativne bakterije. Razdjelu *Firmicutes* (lat. *firmus* – čvrst, *cutis* – koža) su pripadale gram pozitivne bakterije. Razdjelu *Tenericutes* su pripadale gram negativne bakterije bez čvrstog čelijskog zida i peptidoglikana, ali sa tankom plazmatskom membranom. To su polimorfni mikroorganizmi koji uključuju mikoplazme. Razdjelu *Mendosicutes* su pripadali prokarioti sa nesavršenim čelijskim zidom – koji ne sadrži peptidoglikan i bio je predstavljen klasom *Archaeabacteria*. One se često mogu naći u ekstremnim uslovima spoljašnje sredine. Razlikuju se od pravih bakterija po sastavu i primarnoj strukturi ribozomalnih 16 S i 5 S rRNK, kao i transportnih RNK, sastavom membranskih lipida i stvaranjem jednoslojne lipidne membrane, sastavom čelijskog zida bez peptidoglikana i dr.

Otkrivanjem **molekularnih metoda** za identifikaciju mikroorganizama, Berdžijev priručnik u svom izdanju 1984. g. klasificiše bakterije na osnovu srodnosti njihovih **gena koji kodiraju 16 S rRNK**. Nukleotidne sekvene (geni) koje kodiraju rRNK su se jako dobro očuvale tokom evolucije i zato se i koriste u genetskoj identifikaciji bakterija. Na osnovu poređenja nukleotidnih sekvenci 16 S rRNK, otkriveni su bliski evolucijski odnosi među nekim bakterijama.

Bakterije su prokariotski mikroorganizmi građeni od samo jedne ćelije. Veličina im se izražava u mikrometrima. Čelijski zid bakterija razlikuje se od ostalih mikroorganizama, jer je građen od specifičnog polimera – mureina. Razmnožavaju se diobom, pupljenjem, fragmentacijom i segmentacijom, a veoma rijetko je zastupljen polni način razmnožavanja. U nepovoljnim uslovima stvaraju oblike za konzervaciju – spore i ciste. Mnoge bakterije su pokretne. Kao izvor energije i hranljivi supstrat većina bakterija koristi organske i neorganske materije, a neke koriste energiju sunca. Energiju iz supstrata mogu dobiti na više načina: u toku potpune biološke oksidacije, u toku aerobnih fermentacija, anaerobnih fermentacija, anaerobnog disanja. Rasprostranjene su u svim ekosistemima – zemljisu, vodi, vazduhu. Nastanjuju unutrašnje organe životinja i čovjeka, nadzemne i podzemne djelove biljaka, prehrambene proizvode. Imaju ključnu ulogu u kruženju materije. Zajedno sa drugim mikroorganizmima omogućuju ishranu biljaka, pomažu varenje hrane kod domaćih životinja, koriste se u prehrambenoj industriji, u farmaceutskoj industriji, u proizvodnji silaže i dr. Pored veoma korisne uloge, neke bakterije su štetne. One uzrokuju kvarenje namirnica, oboljenja ljudi, životinja i biljaka. Za biljnu proizvodnju, zemljiste, vodu i vazduh, značajne su one koje učestvuju u kruženju ugljenika, azota, fosfora i sumpora. Za stočarsku proizvodnju značajne su one koje se nalaze u organizima za varenje, koje se koriste u proizvodnji stočne hrane, mlijeka i mesa. Prema Berdžijevom

priručniku (2005) bakterije su svrstane u 25 razdjela, dok su prema Berdžijevom priručniku (2017) bakterije svrstane u 27 razdjela: *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Aquificae*, *Bacteroidetes*, *Chlamydiae*, *Chlorobi*, *Chloroflexi*, *Chrysiogenetes*, *Cyanobacteria*, *Deferrribacteres*, *Deinococcus–Thermus*, *Dictyoglomi*, *Fibrobacteres*, *Firmicutes*, *Fusobacteria*, *Gemmatimonadetes*, *Lentisphaerae*, *Nitrospirae*, *Planc-tomycetes*, *Proteobacteria*, *Spirochaetes*, *Synergistetes*, *Tenericutes*, *Thermodesul-fobacteria*, *Thermomicrobia*, *Thermotogae*, *Verrucomicrobia* (<http://wileyonlinelibrary.com/ref/bergeysmanual>, 2017).

Primjer klasifikacije jedne bakterijske vrste (*Escherichia coli*):

- Nadcarstvo: *Prokaryota*
- Carstvo: *Bacteria*
- Grana (razdio): *Proteobacteria*
- Klasa: *Gammaproteobacteria*
- Red: *Enterobacteriales*
- Familija: *Enterobacteriaceae*
- Rod: *Escherichia*
- Vrsta: *Escherichia coli*

IZVOD IZ SISTEMATIKE BAKTERIJA

Carstvo bakterija

- *Grana B XII Proteobacteria*
- *Klasa I Alphaproteobacteria*
- *Red I Rhodospirillales*
- *Familija 1. Rhodospirillaceae*
- *Rod 1. Rhodospirillum*
- *Rod 2. Azospirillum*
- *Familija 2. Acetobacteriaceae*
- *Rod 1. Acetobacter*
- *Rod 9. Gluconobacter*
- *Red 2. Rickettsiales*
- *Familija 1. Rickettsiaceae*
- *Rod 1. Rickettsia*
- *Red 6. Rhizobiales*

- *Familija 1. Rhizobiaceae*
- *Rod 1. Rhizobium*
- *Rod 2. Agrobacterium*
- *Rod 6. Sinorhizobium*
- *Familija 3. Brucellaceae*
- *Rod 1. Brucella*
- *Familija 7. Bradyrhizobiaceae*
- *Rod 1. Bradyrhizobium*
- *Rod 6. Nitrobacter*
- *Klasa II Betaproteobacteria*
- *Red 4. Neisseriales*
- *Familija 1. Neisseriaceae*
- *Rod 1. Neisseria*
- *Klasa III Gamaproteobacteria*
- *Red 9. Pseudomonadales*
- *Familija 1. Pseudomonadaceae*
- *Rod 1. Pseudomonas*
- *Rod 3. Azotobacter*
- *Rod 4. Cellvibrio*
- *Red 12. Aeromonadales*
- *Familija 2. Succinivibrionaceae*
- *Rod 1. Succinivibrio*
- *Rod 3. Ruminobacter*
- *Rod 4. Succinimonas*
- *Red 13. Enterobacteriales*
- *Familija 1. Enterobacteriaceae*
- *Rod 1. Enterobacter*
- *Rod 10. Citrobacter*
- *Rod 12. Erwinia*
- *Rod 13. Escherichia*
- *Rod 16. Klebsiella*
- *Rod 28. Proteus*
- *Rod 32. Salmonella*
- *Rod 34. Shigella*

- Red 14. Pasteurellales
- Familija 1. Pasteurellaceae
- Rod 1. Pasteurella
- Rod 2. Actinobacillus
- Rod 3. Haemophilus
- Klasa IV Deltaproteobacteria
- Red 3. Desulfobacteriales
- Familija Desulfobacteriaceae
- Rod 1. Desulfobacter
- Rod 2. Desulfobacterium
- Grana B XIII Firmicutes
- Klasa I Clostridia
- Red 1. Clostridiales
- Familija 1. Clostridiaceae
- Rod 1. Clostridium
- Rod 9. Sarcina
- Familija 2. Lachnospiraceae
- Rod 4. Butyrivibrio
- Rod 11. Ruminococcus
- Familija 4. Eubacteriaceae
- Rod 2. Acetobacterium
- Klasa II Mollicutes
- Red 1. Mycoplasmatales
- Familija 1. Mycoplasmataceae
- Rod 1. Mycoplasma
- Rod 3. Haemobartonella
- Rod 4. Ureaplasma
- Klasa III Bacilli
- Familija 1. Bacillaceae
- Rod 1. Bacillus
- Familija 4. Listeriaceae
- Rod 1. Listeria
- Familija 5. Staphylococcaceae
- Rod 1. Staphylococcus

- Red 2. *Lactobacillales*
- Familija 1. *Lactobacillaceae*
- Rod 1. *Lactobacillus*
- Familija 4. *Enterococcaceae*
- Rod 1. *Enterococcus*
- Familija 5. *Leuconostocaceae*
- Rod 1. *Leuconostoc*
- Familija 6. *Streptococcaceae*
- Rod 1. *Streptococcus*
- Rod 2. *Lactococcus*
- Grana B XIV *Actinobacteria*
- Klasa I *Actinobacteria*
- Podklasa 5. *Actinobacteridae*
- Red 1. *Actinomycetales*
- Podred 5. *Actinomycineae*
- Familija 1. *Actinomycetaceae*
- Rod 1. *Actinomyces*
- Podred 6. *Micrococcineae*
- Familija 1. *Micrococcaceae*
- Rod 1. *Micrococcus*
- Familija 5. *Brevibacteriaceae*
- Rod 1. *Brevibacterium*
- Podred 7. *Corynebacterineae*
- Familija 1. *Corynebacteriaceae*
- Rod 1. *Corynebacterium*
- Familija 4. *Mycobacteriaceae*
- Rod 1. *Mycobacterium*
- Familija 5. *Nocardiaceae*
- Rod 1. *Nocardia*
- Rod 2. *Rhodococcus*
- Podred 11. *Streptomycineae*
- Familija 1. *Streptomycetaceae*
- Rod 1. *Streptomyces*
- Grana B XVI *Chlamydiae*

- *Klasa I Chlamydiae*
- *Red Chlamydiales*
- *Familija 1. Chlamydiaceae*
- *Rod 1. Chlamydia*
- *Grana B XVII Spirochaetes*
- *Klasa I Spirochaetes*
- *Red 1. Spirochaetales*
- *Familija Spirochaetaceae*
- *Rod 1. Spirochaeta*
- *Rod 2. Borrelia*
- *Grana B XX Bacteroidetes*
- *Klasa II Flavobacteria*
- *Red 1. Flavobacteriales*
- *Familija 1. Flavobacteriaceae*
- *Rod 1. Flavobacterium*
- *Grana B XXI Fusobacteria*
- *Klasa I. Fusobacteria*
- *Red 1. Fusobacteriales*
- *Familija 1. Fusobacteriaceae*
- *Rod 1. Fusobacterium*

OSNOVNA SVOJSTVA I SISTEMATIKA CARSTVA ARHEJA (CARSTVO ARCHAEA)

Arheje su prokarioti sa različitim morfološkim i fiziološkim karakteristikama. Boje se gram pozitivno i gram negativno. Po obliku su okrugle, štapićaste, izvijene i polimorfne. Razmnožavaju se diobom, pupljenjem, fragmentacijom. Mogu biti aerobi, anaerobi ili fakultativni anaerobi. Naseljavaju lokalitete sa ekstremnim uslovima na našoj planeti. Žive u uslovima gdje temperatura prelazi 100°C, u vrućim izvorima, ekstremno kisjelim ili baznim sredinama, ekstremno slanoj vodi. Neke nastanjuju burag prezivara gdje proizvode metan. Od bakterija se, između ostalog, razlikuju po građi ćelijskog zida. Gram pozitivne arheje imaju tanak ćelijski zid koji je građen od pseudomureina. Gram negativne arheje nemaju pravi ćelijski zid, već se iznad citoplazmatske membrane nalazi sloj proteina ili glikoproteina. Za kruženje materije u zemljištu i vodama najznačajnije arheje se mogu svrstati u pet grupa: **metanogene, sulfat redukujuće, ekstremno halofilne, arheje bez ćelijskog zida i eks-**

tremno termofilne sumpor redukujuće arheje. Metanogene bakterije su najveća grupa arheja. Striktni su anaerobi, koji redukcijom CO₂ stvaraju metan. Prema Berdžijevom priručniku (2005) arheje su svrstane u dva razdjela: *Crenarchaeota* i *Euryarchaeota*, dok prema Berdžijevom priručniku (2017) arheje se svrstavaju u tri razdjela: *Crenarchaeota*, *Euryarchaeota* i *Thaumarchaeota*.

OSNOVNA SVOJSTVA I SISTEMATIKA CARSTVA PROTOZOA (CARSTVO PROTOZOA)

Protozoe (praživotinje) su najsloženiji eukariotski mikroorganizmi. Građeni su od samo jedne ćelije. Nemaju čvrst ćelijski zid, pa djelimično mijenjaju oblik ćelije. Citoplazma predstavlja koloidni sistem sastavljen od bjelančevina, ugljenih hidrata, lipida, organskih i neorganskih soli. Dijeli se u dva dijela: spoljašnji ili ektoplazma i unutrašnji ili endoplazma. Ektoplazma (pelikula), kao spoljašnja opna, ima funkciju zaštite, primanja hrane, disanja, ekskrecije i kretanja. Ona predstavlja zadebljali sloj citoplazme. U ćeliji protozoa se nalaze: kontraktilne vakuole, mitohondrije, ribozomi, pravo jedro i druge organele. Neke protozoe imaju usni otvor – citostom i analni otvor – citopig.

Kod protozoa se razlikuju vegetativni oblik i oblik ciste. Ovi oblici se javljaju kod iste vrste tokom njenog života. Ciste se formiraju u nepovoljnim uslovima i služe za konzervaciju. Protozoe se u vegetativnom obliku aktivno kreću, hrane i razmnožavaju, dok su u obliku ciste nepokretne, ne hrane se i ne razmnožavaju. **Vegetativne forme** kod izvjesnih grupa su konstantnog izgleda (okruglaste, ovalne, vretenaste ili srpaste), dok se kod drugih ovaj oblik stalno mijenja, zbog strukture ektoplazme i prisustva ili odsustva čvrstog omotača. **Oblik cista** je uglavnom stalan, čak i kod vrsta sa promjenljivim vegetativnim oblikom. One su okruglastog ili ovalnog izgleda i manje su od vegetativnih oblika od kojih su nastale.

Veličina protozoa se kreće od 4 do 400 µm. Razmnožavaju se bespolno i polno. Hrane se heterotrofno na dva načina: holozoično i holofitno. **Holozoično** se hrane tako što kroz citostom uvlače čvrste čestice hrane, bakteriju ili algu i oko njih formiraju digestivnu vakuolu u kojoj se vrši varenje hrane. **Holofitno** se hrane tako što preko cijele površine ćelije, nekim od mehanizama transporta (difuzija, aktivni transport, prenos grupa), usvajaju rastvorene hranljive materije. Žive u vlažnijim zemljištima, slatkim i slanim vodama i u organima za varenje kod domaćih životinja. Protozoe su značajne u kruženju materije. U organima za varenje regulišu brojnost bakterija, izvor su proteina i pomažu varenje celuloze. Ako se namnože u većem broju mogu biti i štetne, jer smanjuju broj bakterija. Pored saprofitskih, među protozoama ima i patogenih vrsta koje mogu uzrokovati ozbiljna oboljenja ljudi i životinja (*Amoeba histolytica*, *Babesia*, *Coccidia*, *Trichomonas*, *Trypanosoma*, *Leishmania*, *Toxoplasma*).

Protozoe su svrstane u klase, redove, familije, robove i vrste. U okviru ovih grupa postoje i podgrupe (podklasa, podred itd). Svaka protozoa nosi dvojni naziv, od kojih prvi označava pripadnost rodu, a drugi određuje vrstu (npr. *Tripanosoma equiperdum*). Sistematska protozoa izvršena je **na osnovu načina kretanja** u četiri razdjela: *Sarcomastigophora*, *Ciliophora*, *Apicomplexa* i *Cnidospora*.

- Razdrio ***Sarcomastigophora*** se dijeli na dva podrazdjela: *Sarcodina (Rhizopoda)* i *Mastigophora (Flagellata)*. *Sarcodina (Rhizopoda – amebe)* se kreću pseudopodijama ili lažnim nožicama. Ćelija ameba je potpuno bez ćelijskog zida. *Mastigophora (Flagellata – bičari)* se kreću pomoću flagela. Broj flagela je najčešće 2–8. Od parazitskih predstavnika najpoznatiji su *Trichomonas* i *Tripanosoma*.
- Razdrio ***Ciliophora (Ciliata – trepljari)*** se kreću nešto tanjim izraštajima od flagela, koje se zovu cilije – treplje. Spadaju u najsvršenije protozoe. Žive u slanim i slatkim vodama, zemljištu i organima za varenje. Cilije mogu biti raspoređene po cijeloj površini, oko usnog otvora, na donjoj strani ćelije. Cilije mogu biti i različite dužine.
- Razdrio ***Apicomplexa*** (ovom razdjelu pripada klasa *Conoidasida*, u koju su svrstane podklase *Coccidia* i *Gregarinia*. Neke nemaju organele za kretanje, a neke ih izgube u toku života. Stvaraju spore i većina je patogena za ljude i životinje (slika 189).
- Pripadnici razdjela ***Cnidospora*** stvaraju spore i uglavnom su paraziti životinja; ovom razdjelu pripadaju klase *Myxosporidia* (uglavnom su paraziti riba) i *Actinomyxidida*.

Prema Ruggieri-ju (2015) carstvo protozoa je klasifikovano u osam razdjela: *Euglenozoa*, *Leukozoa*, *Metamonada*, *Percolozoa*, *Amoebozoa*, *Choanozoa*, *Microsporidia* i *Sulcozoa*.



SLIKA 189 –*Oocista sporozoe*

(http://andraguilera560.blogspot.com/2011_04_01_archive.html)

OSNOVNA SVOJSTVA I SISTEMATIKA CARSTVA GLJIVA (CARSTVO FUNGI – MYCOTA)

Gljive su eukariotski mikroorganizmi i znatno su krupnije od bakterija. Morfološki se veoma razlikuju, što je rezultat velike brojnosti njihovih vrsta. Vegetativne ćelije gljiva mogu biti končaste, okruglaste, elipsoidne i nepravilne. Končaste ćelije višećelijskih gljiva – pljesni zovu se **hife**, a splet hifa čini **micelijum**. Hife mogu biti **neseptirane**, što je karakteristično za klasu *Zygomycotina*, ili **septirane**, što je karakteristično za klase *Ascomycotina*, *Basidiomycotina* i *Deuteromycotina*. Prečnik hifa se kreće od 5 do 50 µm i više. Ćelije jednoćelijskih gljiva – **kvasaca**, najčešće su okrugle, ovalne ili oblika cigare. Veličine su 5–15 µm.

Ćelijski zid većine gljiva sadrži hitin ili njemu slična jedinjenja. Ispod ćelijskog zida nalazi se sitno granulirana citoplazma. Gljive se razmnožavaju bespolno i polno. Bespolno se razmnožavaju fragmentacijom, vegetativno (pljesni), diobom, pupljenjem (kvasci) ili putem spora. Po potrebi, talus može stvarati posebne tvorevine za vegetativno razmnožavanje (sklerocije), koje služe i za preživljavanje pljesni u nepovoljnim uslovima. Bespolno razmnožavanje sporama se vrši pomoću spora: zoospora, konidija, sporangiospora. Polno razmnožavanje gljiva odvija se spajanjem polnih ćelija – gameta, koje mogu biti morfološki iste (izogamija) ili različite (heterogamija).

Gljive su veoma široko zastupljene u prirodi. Mogu se naći u svim prirodnim supstratima (zemljištu, biljnim i životinjskim ostacima, hrani i dr.). Najbolje se razvijaju u sredinama sa nižom pH vrijednosti, iako su brojne i u sredinama sa neutralnom pH vrijednosti. Imaju izrazito razvijen enzimski sistem, što im omogućava da koriste i najsloženije organske materije. Značajne su za kruženje materije u prirodi, stvaraju biljne asimilative, a neke sa biljkama stupaju u bližu asocijaciju, pa im pomažu u usvajaju hranljivih materija. U industriji se koriste za proizvodnju: alkohola (kvasci), organskih kisjelina (*Aspergillus*), antibiotika (*Penicillium*). Neke gljive su fitopatogene (*Fusarium*, *Alternaria*, *Sclerotina*, *Ustilago*, *Verticillium* i dr.). Neke proizvode toksine opasne po zdravlje ljudi i životinja (*Aspergillus flavus*). Mogu izazvati kvarenje hrane, oštećenja građevina od drveta, proizvoda od kaučuka i gume, proizvoda naftе i dr.

Sistematika gljiva izvršena je na osnovu: morfoloških, biohemijских, fizioloških i molekularnih osobina. Na osnovu morfološke građe i načina polnog razmnožavanja podijeljene su u dva razdjela:

Carstvo Fungi

Razdio: Myxomycota

- Klase: *Acrasiomycetes, Myxomycetes, Plasmodiophoromycetes*

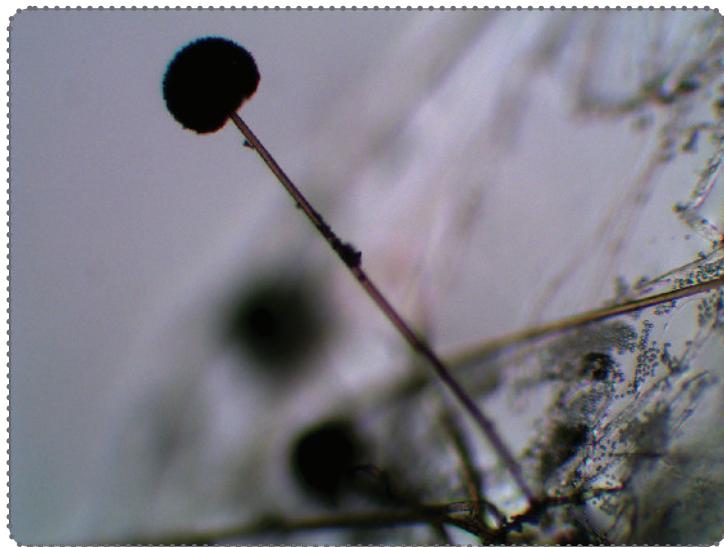
Razdio: Eumycota:

- Podrazdio: *Mastigomycotina*
- Klase: *Chytridiomycetes, Hyphochytridiomycetes, Oomycetes*
- Podrazdio: *Zygomycotina*
- Klasa: *Zygomycetes*
- Familija: *Mucoraceae*
- Rodovi: *Mucor* i *Rhizopus*
- Klasa: *Trichomycetes*
- Podrazdio: *Ascomycotina*
- Klasa: *Hemiascomycetes*
- Familija: *Saccharomycetaceae*
- Rodovi: *Saccharomyces, Torula, Hansenula*
- Klasa: *Plectomycetes*
- Familija: *Aspergillaceae*
- Rodovi: *Aspergillus, Penicillium*
- Podrazdio: *Basidiomycotina*
- Klase: *Teliomycetes, Gasteromycetes, Hymenomycetes*
(rodovi: *Polyporus, Boletus, Amanita*)
- Podrazdio: *Deuteromycotina:*
- Klase: *Blastomycetes, Coelomycetes, Hyphomycetes*
(rodovi: *Fusarium, Alternaria*)

Razdio Myxomycota su sluzave gljive čije vegetativno tijelo nije izgrađeno od hifa, već je u obliku plazmodije. Plazmodija (plazmodijum) predstavlja krupnu, više-jedarnu protoplazmatičnu masu nastalu udruživanjem više ćelija, koje su izgubile svoju individualnost – uslijed nedostatka ćelijskog zida. Plazmodija je nepravilnog oblika, kreće se talasastim kretanjem. U nepovoljnim uslovima obrazuju plodonosno tijelo – etaliju, u kojoj se nalaze spore za konzervaciju. Karakteriše ih sposobnost fagocitoze – sposobne su da unose čvrste čestice hranljive materije.

Razdio Eumycotina ili prave gljive imaju vegetativno tijelo izgradeno od hifa. Splet hifa čini micelijum. Za poljoprivrednu proizvodnju i za kruženje materije u prirodi značajne su gljive iz klase: *Zygomycetes, Ascomycetes, Basidiomycetes, Deuteromycetes*.

Predstavnici **klase Zygomycetes** imaju neseptirane hife, bespolno se razmnožavaju sporangisporama, a polno izogamijom. Kod zigomiceta gametangije su pojedinačne ćelije na krajevima hifa. Veoma su brojne u zemljištu i na prehrabbenim proizvodima. Najvažniji rodovi su *Mucor* i *Rhizopus* (slika 190).



SLIKA 190 – *Rhizopus spp.*, nativni preparat

(https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/ec/Black_mold_%28rhizopus_spp%29_By_El_sayed_Al_gayar.jpg)

Klasa Ascomycetes obuhvata končaste gljive sa septiranom hifom i okruglaste gljive koje ne formiraju pravu hifu (kviasi). Končaste gljive se bespolno razmnožavaju sporulacijom – konidijama i fragmentacijom. Bespolne spore se stvaraju na haploidnom micelijumu, na vrhu posebnih, reproduktivnih hifa koje se zovu konidiofore. Okruglaste gljive – kviasi se bespolno razmnožavaju diobom ili pupljenjem. Sve gljive iz ove klase se polno razmnožavaju heterogamijom, pri čemu se formiraju polne spore – askospore. Tokom polnog razmnožavanja dolazi do stvaranja askusa – vrećaste, kesaste strukture, u kojoj se redupcionom diobom – mejozom, a zatim mitotičkom diobom stvaraju haploidne askospore. Zbog vrećastog izgleda sporangije – askusa, askomicete su i doble ime (grčka riječ *asco* znači kesast, vrećast). Askomicete imaju gametangije koje se razlikuju od vegetativnih hifa, ali i međusobno. (Gametangija je organ u kome se produkuju gameti. Gameti u gametangijama nastaju mitotičkim diobama). Askospore nastaju nakon spajanja jedara polnih ćelija – gameta u vrećici – askusu. Nakon mejoze, u askusu dolazi do mitotičke diobe, pri čemu se mogu formirati: dvije, četiri, šest ili osam askospora. Gljive iz ove klase su brojne u zemljištu, prehrabbenim proizvodima, stočnoj hrani, na biljkama. Najvažniji predstavnici končastih gljiva su As-

pergillus i *Penicillium*, a od kvasaca rodovi: *Saccharomyces*, *Hansenula*, *Torula* i dr. Pored velikog značaja u kruženju materije u prirodi, gljive iz ove klase se u industriji koriste za proizvodnju antibiotika (*Penicillium*), limunske kisjeline (*Aspergillus*), pri proizvodnji specijalnih vrsta sira (*Penicillium*), proizvodnji vina i piva (kvasci). Mnoge su fitopatogene i toksikogene, kao što je *Claviceps purpurea*.

Klasa Basidiomycetes obuhvata najsavršenije višećelijske gljive koje imaju septirane hife, a neke formiraju izrazito velika plodonosna tijela. Imaju značajnu ulogu u razgradnji organskih materija. Bespolno se razmnožavaju konidijama, a polno gametangijom, pri čemu nastaju bazidiospore. Polno razmnožavanje se vrši bazidijama – tvo-revinama koje su po funkciji slične vrećicama askomiceta – askusima. Svaka bazidija nastaje poslije spajanja jedara – gameta i predstavlja cilindričnu ćeliju, na čijem se kraju formiraju četiri bazidiospore. One se izdvajaju i, dospjevši u povoljne uslove, razvijaju u novi micelijum. U ovu grupu spadaju jestive gljive: *Agaricus* (šampinjon), *Boletus* (vrganj) i *Pleurotus* (bukovača). U klasu Basidiomycetes (Basidiomycota) spadaju i mnoge fitopatogene gljive.

Klasa Deuteromycetes (*Fungi imperfecti*) su nesavršene gljive, zato što se ne razmnožavaju polno. Vegetativno tijelo im je izgrađeno od septiranih hifa. Bespolno se razmnožavaju konidijama i fragmentacijom. Brojne su u zemljištu i na prehrambenim proizvodima. Najvažniji predstavnici iz ove klase su: *Fusarium*, *Alternaria*, *Trichoderma*, koji su u najvećem broju saprofiti, ali ima i fitopatogenih i toksikogenih vrsta.

OSNOVNA SVOJSTVA I SISTEMATIKA CARSTVA HROMISTA (CARSTVO CHROMISTA)

Hromistima pripadaju sve alge koje sadrže hlorofil **a** i hlorofil **c**. Hlorofil **a** je najznačajniji pigment fotosinteze. Hlorofili **b**, **c** i **d** su pomoćni pigmani fotosinteze. Oni apsorbuju svjetlost talasne dužine koju propušta hlorofil **a**, čime povećavaju efikasnost fotosinteze. Hromisti se dijele na dva podcarstva: carstvo *Hacrobia* – sa razdjelima *Haptophyta*, *Cryptophyta* i *Heliozoa* i carstvo *Harosa*, sa razdjelima *Alveolata*, *Heterokonta* i *Rhizaria*.

Mrke alge (*Phaeophyta*) pripadaju razdjelu *Heterokonta*. Žive najčešće u hladnim morima. Sakupljaju se u primorskim krajevima i koriste za dubrenje i poboljšanje kvaliteta zemljišta. Njihov talus se takođe koristi u proizvodnji akohola manitola, alginata i joda, zbog čega su našle primjenu u prehrambenoj i farmaceutskoj industriji. Vatrene alge *Pyrrhophyta* (*Dinoflagellata*) pripadaju razdjelu *Alveolata*. Karakteriše ih prisustvo bićeva koji su nejednake dužine; najčešće su zlatnobraon boje. Žive uglavnom u morima. Zlatnožute alge (*Chrysophyta*) pripadaju razdjelu *Heterokonta*. Žive najčešće

u slatkim vodama. Diatomeje, silikatne alge (*Bacillariophyta*) pripadaju razdjelu *Heterokonta*. Njihovim taloženjem nastaju silikatne stijene. *Chlorophyta* (zelene alge), *Charophyta* (stjenovite alge) i *Rhodophyta* (crvene alge) prema najnovijoj klasifikaciji svrstane su u carstvo biljaka (*Plantae*), a *Euglenophyta* u carstvo protozoa (podcarstvo *Eozoa*, razdrio *Euglenozoa*) (Ruggieri i sar. 2015).

Prema Cavaller-Smith-u (2018) hromisti se dijele u dva podcarstva: *Hacrobia* i *Harosa* i osam razdjela: *Miozoa*, *Ciliophora*, *Gyrista*, *Bigyra*, *Cercozoa*, *Retaria*, *Cryptista* i *Haptista*.

Alge su široko rasprostranjena i značajna grupa organizama. Njihova uloga je veoma značajna u ciklusu kruženja materije, u kome se javljaju kao primarni organski producenti. Alge su fotosintetički eukariotski mikroorganizmi. Međutim, među njima se nalaze i organizmi koji se mogu hrani miksotrofno i heterotrofno. Miksotrofnost i heterotrofnost se ispoljavaju ili samo pri izmijenjenim uslovima u spoljašnjoj sredini ili su stalna osobina, pri čemu je heterotrofnost uvijek sekundarnog karaktera. Naziv algi potiče od latinske riječi *algae* i u bukvalnom prevodu znači morska trava. Vegetativno tijelo algi se zove *talus*. Talus algi je različite veličine, od nekoliko mikrometara, do više desetina metara. Njihovo tijelo, bez obzira na složenost građe, nikada nije diferencirano na stablo, korijen i list. Alge žive samostalno ili u zajednici sa drugim biljnim ili životinjskim organizmima. Tako na primjer, lišajevi predstavljaju simbiozu algi sa gljivama.

Prema obliku, alge mogu biti: okrugle, končaste, štapićaste, zvjezdaste i raznih drugih oblika. Mogu biti jednoćelijske i višećelijske, pojedinačne i kolonijalne. Kolonije su manji ili veći kompleksi promjenljivog broja ćelija, koje su u morfološkom i fiziološkom pogledu samostalne i nezavisne. Nastaju tako što jednoćelijski organizmi nakon diobe grade komplekse različitog oblika i veličine.

Sve alge u svojoj ćeliji sadrže hlorofil, a neke, pored hlorofila, sadrže i dopunske pigmente. Hlorofil i pigmenti smješteni su u posebnim organelama – hloroplastima, koji mogu biti različitog oblika: okruglog, pločastog, zvjezdastog, spiralnog i sl. Veličina algi je različita i kreće se od nekoliko mikrometara – kod jednoćelijskih, pa do nekoliko metara – kod filamentoznih algi. Razmnožavaju se bespolno – diobom, fragmentacijom i sporulacijom, a polno – gametangijom. Fragmentacijom se talus razdvaja na djelove – fragmente, pri čemu svaki fragment daje novi talus. Reprodukcija sporulacijom podrazumijeva stvaranje spora u vegetativnoj ćeliji ili u specijalizovanim ćelijama – sporangijama. Spore mogu biti pokretne i zovu se **zoospore** ili nepokretne (u sporangijama) i zovu se **aplanospore**. Razmnožavanje diobom odvija se kroz diobu jedra, koju slijedi dioba citoplazme. Polna reprodukcija odvija se spajanjem ženskih i muških gameta. Ženski gameti (jajna ćelija) formiraju se u oogeniji, a muški (spermatozoidi)

u anteridiji. Njihovim spajanjem nastaje diploidni zigot. Neke alge se kreću flagelama, a neke ne posjeduju organele za kretanje.

Alge su tipični **fotoautotrofni mikroorganizmi**. Iz ugljendioksida i vode, uz pomoć energije svjetlosti, sintetišu organsku materiju. Najviše su zastupljene u vodenim sredinama i vlažnim zemljištima, a neke žive na biljkama ili u zajednici sa gljivama (ili šajevi) na stijenama. One takođe mogu da žive u simbiotskoj zajednici sa protozoama, školjkama, na koralima i dr. Neke alge (npr. *Dinoflagellata* – dinoflagelate), proizvode toksine, pa mogu izazvati uginuće vodenih životinja.

OSNOVNA SVOJSTVA I SISTEMATIKA CARSTVA VIRUSA (CARSTVO VIRUS, VIRALIA)

Virusi (lat. *virus* – otrov) su najsitniji mikroorganizmi, vidljivi samo elektronskim miroskopom. Virusi su obligatni (obavezni) **intracelularni paraziti**, jer se mogu razmnožavati samo u ćelijama živih organizama (višećelijskih i jednoćelijskih). Virusi mogu biti različitog oblika: **štapićastog, nitastog, loptastog, kockastog, topuzastog**. Veličina im se kreće od 15 do 400 nm. Veoma su rasprostranjeni u prirodi i izazivaju bolesti ljudi, životinja, biljaka i mikroorganizama. Razmnožavaju se na način koji je jedinstven u živom svijetu, pa se zato koristi izraz umnožavanje. Virusi mikroorganizma zovu se fagi, a virusi bakterija bakteriofagi. Bakteriofagi imaju topuzast oblik, koji se odlikuje prisustvom glave i repa.

Virusi nemaju ćelijsku građu niti sopstvene metaboličke sisteme, nesposobni su za rast i binarnu diobu, sadrže nukleinske kiseline samo jednog tipa: DNK ili RNK. Za njihovo umnožavanje potrebna je samo nukleinska kiselina. Za sintezu svojih bjelančevina koriste ribozome ćelije domaćina. Ne umnožavaju se na vještačkim hranljivim podlogama i mogu egzistirati samo u organizmu domaćina koji je na njih senzibilan. Kada su van ćelije, u tzv. obliku **viriona**, ne vrše metaboličke funkcije, ne rastu i ne umnožavaju se. Građeni su iz dvije komponente. Jednu čini nukleinska kiselina – DNK ili RNK, a drugu – omotač proteinske prirode. Nukleinska kiselina čini jezgro virusa ili nukleoid. U virusima su nađena četiri tipa nukleinskih kiselina: dvolančana DNK (adenovirusi, herpesvirusi, virus boginja, papovavirusi i dr.), jednolančana DNK (parvovirusi, kolifag), dvolančana RNK (reovirusi) i jednolančana RNK (pikornavirusi, orto i paramiksovirusi). Proteinski omotač se nalazi oko nukleinske kiseline i zove se **kapsid**, pa se za virus kaže da je nukleokapsid. Kapsid je građen od velikog broja identičnih proteinskih subjedinica koje se zovu kapsomere. Kapsid ima više uloga: štiti nukleinsku kiselinu od razarajućeg dejstva enzima ćelije domaćina, omogućava prenošenje nukleinske kiseline od jedne do druge ćelije domaćina, ima svojstva antigena itd. Neki virusi su obavijeni još jednom opnom koja se zove **peplos**. Peplos se

sastoji iz glikoproteina i lipida. Virusi mogu sadržati i enzime koji im omogućavaju da napadnu ćeliju i da se u njoj umnožavaju. Lipidi su važna komponenta viriona. Neki virusi ne sadrže lipide. Rastvarači masti (hloroform, etar) inaktiviraju ili veoma smanjuju aktivnost virusa koji sadrže lipide. Većina virusa koji sadrže lipide imaju peplos. Kod virusa koji nemaju peplos, lipidne komponente se uklapaju u pukotine između kapsomera. Lipidi ugrađeni u virione vode porijeklo od ćelije. Virus influence veći dio lipida dobija prolaskom kroz ćeljsku membranu.

PITANJA

1. Šta je sistematika mikroorganizama?
2. Šta je nomenklatura mikroorganizama?
3. U koje taksonomske grupe su svrstani mikroorganizmi?
4. Na osnovu kojih osobina se svrstavaju mikroorganizmi u taksonomske grupe?
5. Koja je osnovna sistematska kategorija, odnosno taksonomska grupa?
6. Šta predstavlja soj nekog mikroorganizma?
7. Kako se u sistematici označavaju fiziološke, morfološke i serološke razlike između sojeva?
8. Koja su osnovna svojstva: virusa, protozoa, gljiva, algi i bakterija?
9. Koja su osnovna svojstva arheja?
10. U koje taksonomske grupe su svrstane bakterijske vrste *Escherichia coli* i *Lactobacillus bulgaricus*?
11. U koje taksonomske grupe su svrstane gljive *Aspergillus flavus* i *Saccharomyces cerevisiae*?
12. Na osnovu čega je izvršena sistematika protozoa?
13. Šta je virion?

STANIŠTA MIKROORGANIZAMA U PRIRODI

MIKROORGANIZMI U ZEMLJIŠTU

Mikroorganizmi su živi dio zemljišta i učestvuju u **formiranju njegovih svojstava**. Brojnost mikroorganizama se kreće od nekoliko desetina do nekoliko milijardi u jednom gramu zemljišta. U zemljištu se nalaze sve grupe mikroorganizama. Mikroorganizmi održavaju njegovu strukturu, nivo organske materije i stabilnost svih drugih svojstava. Oni učestvuju u transformacijama svih organskih i neorganskih jedinjenja u zemljištu i obezbjeđuju biljke asimilativima. Tip zemljišta ima najveći uticaj na brojnost i aktivnost mikroorganizama. Toplijia zemljišta su u prosjeku bogatija mikroorganizmima. Broj mikroorganizama se smanjuje s dubinom. Najveća brojnost i aktivnost je u sloju od 0 do 40 cm, gdje ima najviše organske materije, dovoljno vlage i kiseonika. Brojnost mikroorganizama se smanjuje i sa povećanjem nadmorske visine. U zemljistima na većoj nadmorskoj visini manje je organske materije, veće je kolebanje ekoloških faktora, slabija je vegetacija. Na brojnost mikroorganizama u zemljištu utiču i biljke preko korijenskih izlučevina. Primjenom organskih đubriva, zaoravanjem svježe biljne mase ili žetvenih ostataka, povećava se ukupna mikrobiološka aktivnost. Čovjek svojom aktivnošću može negativno uticati na mikrobiološke procese u zemljištu (nekontrolisanom primjenom pesticida, mineralnih đubriva i neunošenjem organskih đubriva, teškom mehanizacijom itd.).

MIKROORGANIZMI U VODENIM SREDINAMA

U tekućim, stajaćim, slatkim i slanim vodama mikroorganizmi vrše sintezu i razgradnju organske materije i tako učestvuju u kruženju materije. Izučavanjem mikroorganizama u tekućim vodama bavi se posebna grana mikrobiologije – **limnološka mikrobiologija**. Otpadne vode se ulaskom u rijeku razblažuju, grubi sastoјci se talože, a mikroorganizmi vrše mineralizaciju voda (autopurifikacija). Povećane količine teže razgradivih materija, npr. fenola, usporavaju proces biološkog čišćenja, a povećanjem temperature proces se ubrzava.

Brojnost mikroorganizama **u slatkovodnim jezerima** zavisi od sadržaja organske materije, uticaja sunčeve svjetlosti, temperature, sadržaja kisjelina, baza, ugljendioksida, vodonika, kao i od dužine djelovanja pojedinih faktora. Jezera sa većim sadržajem organske materije imaju veći broj mikroorganizama.

Brojnost i aktivnost tipičnih jezerskih mikroorganizama prati se po dubini, i to u zoni koja ne podlježe uticaju kopna. **Podzemne vode** imaju malo mikroorganizama, jer na velikim dubinama nema slobodnog kiseonika i temperature su niske. U ovim vodama nema organske materije, pošto se ta voda profiltrirala kroz deblji sloj zemljишta. Ukoliko se u podzemnim vodama koje se koriste kao bunari, nađe *Escherichia coli*, sulfitoredukujuće klostridije ili *Proteus*, znak je da se u blizini nalaze septičke jame ili neki drugi izvori zagađenja. Zbog specifičnih uslova, mikroorganizmi koji žive u morima se razlikuju od kopnenih mikroorganizama. **Morska voda** je specifična biosfera sa visokim procentom soli, do 3,6%, od čega 85% čini NaCl i oko 11% MgSO₄ i visokim hidrostatičkim pritiskom. Niske temperature su takođe karakteristika velikih okeana, a oko 7% morske površine prekriveno je ledom. Čak i u ovakvim uslovima žive mikroorganizmi. U morima i okeanima žive bakterije, alge i protozoe. Broj mikroorganizama se kreće u milionima po gramu, a najveći je na površini dna, gdje se dodiruju voda i mulj. Ovi mikroorganizmi transformišu organske materije i grade morski humus. Većina mikroorganizama u morima su saprofiti, ali ima i patogenih koji izazivaju oboljenja riba i školjki. Ukoliko se u more izlije otpadna voda sa organskim materijama, razvijaju se proteolitički mikroorganizmi koji izazivaju kvarenje mesa u toku prerade ribe. Najčešće se javljaju: *Escherichia coli*, *Flavobacterium*, *Proteus*, *Bacillus* i *Micrococcus*. Razlaganjem organskih materija stvara se veća količina amonijačnog i nitratnog azota, što dovodi do intenzivnog razmnožavanja cijanobakterija i algi – tzv. „cvjetanja mora“. Voda postaje mutna, zelena i neprijatnog mirisa, sa pjenom na površini. Sadržaj kiseonika u vodi je smanjen, tako da može doći i do uginuća životinja koje žive u njoj (slika 191).



**SLIKA 191 – Uginuće ribe uslijed cvjetanja mora
– prekomjernog razmnožavanja algi i cijanobakterija**
(<https://niagaraatlarge.com/2015/06/17/canada-u-s-groups-applaud-commitment-to-healthy-lake-erie-free-from-harmful-algal-blooms>)

Oko 50% vrsta cijanobakterija – izazivača cvjetanja, stvaraju toksine – cijanotoksine. Cijanotoksi mogu biti smrtonosni u relativno malim količinama, tako da se svaka pojava cvjetanja cijanobakterija u vodi mora posmatrati kao potencijalna opasnost po živi svijet. Do trovanja može doći direktnim kontaktom sa cijanotoksinima ili unošenjem vode i ribe, u čijim se tkivima deponuju ovi toksi.

MIKROORGANIZMI U ATMOSFERI

Brojnost mikroorganizama u atmosferi zavisi od jačine vazdušnih strujanja, veličine čestica prašine, vlažnosti, temperature, plodnosti zemljišta, pokrivenosti zemljišta vegetacijom, veličine naselja, industrije itd. Ukoliko je strujanje vazduha intenzivnije, u vazduhu ima više mikroorganizama, jer se diže veća količina prašine sa zemljišta. Ako su čestice prašine krupnije, kraće se zadržavaju u atmosferi i zajedno sa mikroorganizmima padaju na zemlju. Smanjenje broja mikroorganizama u atmosferi dešava se i ako je atmosfera vlažnija, jer se mikroorganizmi vežu za kapljice vode i zajedno padaju na zemlju. Zbog toga je atmosfera poslije padavina manje kontaminirana mikroorganizmima. Visoke temperature nepovoljno utiču na mikroorganizme u atmosferi, jer dolazi do smanjenja vlažnosti i isušivanja ćelije. Pored toplotnog efekta, sunčevi zraci djeluju inhibitorno na mikroorganizme preko ultravioletnih zračaka. Vazduh iznad plodnijeg zemljišta ima više mikroorganizama nego iznad pjeskovitog. Atmosfera iznad naselja i industrijskih područja ima više mikroorganizama. U vazduhu se u najvećem broju nalaze **spore bakterija, spore gljiva i okrugle bakterije**. To su uglavnom **obojene bakterije**, jer ih boja štiti od sunčevog zračenja, a spore su otpornije na nedostatak vode i hranljivih materija. Zahvaljujući ovim svojstvima, mikroorganizmi su nađeni na visini do 9000 m. Najveći broj mikroorganizama u atmosferi su saprofiti, ali i fitopatogeni mikroorganizmi i mikroorganizmi uzročnici oboljenja kod ljudi i životinja. Strujanjem vazduha se šire epidemije. Veoma su značajni i mikroorganizmi u atmosferi zatvorenog prostora, što se odnosi na škole, kancelarije, bolnice, kasarne. Do kontaminacije vazduha u zatvorenom prostoru dolazi prilikom kijanja, kašlja, govora, preko posteljine itd. Infektivna osoba rasijava kapljice na udaljenosti i preko 1,5 m. Za prenošenje mikroorganizama u zatvorenom prostoru važna je veličina kapljica na kojima su mikroorganizmi vezani. Veće kapljice se brže talože i padaju u blizinu izvora kontaminacije. U prostorijama gdje je to neophodno, mikroorganizmi se uništavaju UV zracima (operacione sale, mikrobiološke laboratorije), pranjem podova i zamagljivanjem vazduha dezinfekcionim sredstvima. Brojnost mikroorganizama u objektima u kojima žive životinje zavisi od veličine prostorije, broja životinja, higijene, godišnjeg doba i dr. Mikroorganizmi u vazduhu dolaze iz hrane, prostirke ili sa životinja. Od patogenih mikroorganizama najbrojnije su stafilokoke, *Escherichia*, *Aspergillus* i *Mucor*.

MIKROORGANIZMI SA POSEBNIM SVOJSTVIMA

Neki mikroorganizmi dio hemijske energije stvorene u toku katabolizma koriste u procesima biosinteze, za razmnožavanje i kretanje, a najveći dio (oko 60%) oslobađaju u obliku toplote i svjetlosti ili je troše na stvaranje boja, mirisa ili toksina, pa se zato zovu: termogeni, fotogeni, hromogeni, aromogeni i toksikogeni mikroorganizmi.

Termogeni mikroorganizmi višak energije, koja može iznositi i do 75%, transformišu u toplotu. Da bi se toplota akumulirala, sredina treba da je slab provodnik. Brzo se razmnožavaju, aerobni su i prilagođeni na više temperature. U ovu grupu mikroorganizama spadaju neke sporogene bakterije, alge, aktinomicete i gljive.

Proces zagrijavanja sredine pomoću termogenih mikroorganizama naziva se **mikrobiološka termogeneza**. Ako se termogeneza odvija u gomilama vlažnog sijena i silosima sa nedovoljno osušenim zrnom, u skladištima vune i pamuka, dolazi do velikih šteta. Proces termogeneze se sprečava stalnim održavanjem vlažnosti na niskom nivou i sprečavanjem aeracije.

Termogeni mikroorganizmi mogu biti štetni i u industriji konzervi. Ako se njihove spore nađu u konzervama sa hranom, one preživljavaju sterilizaciju i kvare hranu. Međutim, proces termogeneze može biti koristan, jer omogućuje brže sagorijevanje stajnjaka, zagrijavanje leja u plasteničkoj proizvodnji povrća, a enzimi termogenih mikroorganizama koriste se u čistom stanju u industriji.

Fotogeni mikroorganizmi višak energije otpuštaju u obliku svjetlosti, a pojava se zove **bioluminiscencija**. Transformacija hemijske energije u svjetlosnu vrši se pomoću enzima luciferaze. U ćelijama mikroorganizama nalazi se proteinsko jedinjenje luciferin, koje u prisustvu kiseonika, aldehida i luciferaze otpušta vodonik i elektrone, prelazi u oksidativno stanje, a oslobođena energija se transformiše u svjetlosnu. Fotogenih bakterija ima najviše u morima. To su na primjer: *Photomonas*, *Vibrio* i *Sarcina*. Fotogene bakterije se javljaju i na ribljem i drugim vrstama mesa. Znak su svježine mesa, jer su osjetljive i na minimalne količine amonijaka koji nastaje razlaganjem proteina.

Hromogeni mikroorganizmi višak energije nastale u disimilacionim procesima koriste za sintezu obojenih materija (pigmenata). Prema hemijskom sastavu i rastvorljivosti u vodi ili drugim rastvaračima, postoji nekoliko vrsta pigmenata: hlorofili – zeleni pigmenti, karotinoidi – pigmenti crvene, narandžaste i žute boje, melanini – smeđi, crni, narandžasti i crveni pigmenti i antocijanini – pigmenti crvene ili plave boje. Prema tome da li se pigmenti zadržavaju u ćeliji ili se izdvajaju iz nje, dijele se na: hromoferne i hromoparne.

Hromoferni mikroorganizmi zadržavaju pigmente u ćeliji i ne boje okolinu (alge, lišajevi, zelene i purpurne bakterije). **Hromoparni mikroorganizmi** pigmente izdvajaju iz ćelije. Plavu boju okolini daju *Pseudomonas fluorescens*, crvenu *Sarcina marcescens*, narandžastu *Pseudomonas aureofaciens*. Ovi pigmenti imaju antibiotička svojstva i štite ćelije od mikroorganizama antagonista. U prirodnim sredinama, npr. zemljištu, hromogeni mikroorganizmi daju boju humusu, dok u mlijeku i mlječnim proizvodima, pored promjene boje, uzrokuju i kvarenje.

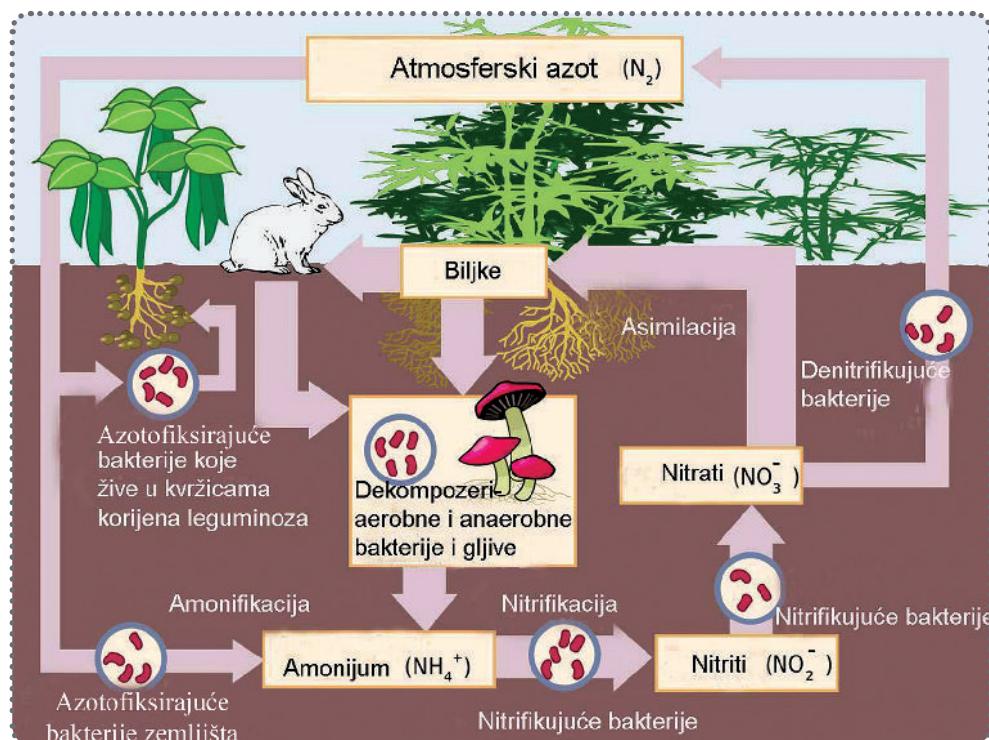
Aromogeni mikroorganizmi stvaraju veću količinu jedinjenja prijatnog i neprijatnog mirisa. Karakterističan primjer je stvaranje diacetila, koji rastvoren u vodi daje prijatan miris na voće. Aromogeni mikroorganizmi imaju praktičnu primjenu u preradi poljoprivrednih proizvoda u mljekarstvu. U pripremanju pavlake, sira i maslaca koriste se sljedeće vrste: *Streptococcus citrovorus*, *Streptococcus paracitrovorus* i *Lactococcus cremoris*. Neki aromogeni mikroorganizmi stvaraju neprijatne mirise, pa su zato nepoželjni u namirnicama. U namirnice dospijevaju kontaminacijom iz spoljašnje sredine. Neke vrste bakterija iz roda *Pseudomonas* izazivaju miris na krompir, repu, celer i ribu, dok *Escherichia coli* i *Aerobacter aerogenes* dovode do stvaranja mirisa na stajnjak. Neke vrste aktinomiceta stvaraju miris na zemljište.

Toksikogeni mikroorganizmi u toku metabolizma sintetišu jedinjenja toksična za druge mikroorganizme, biljke, životinje i ljude. Toksini se mogu izlučivati iz žive ćelije (egzotoksi) ili ostati u ćeliji do njene autolize (endotoksi). **Egzotoksi** su po hemijskom sastavu proteini enzimske prirode.

Kod životinja egzotoksi djeluju na digestivne organe, krvotok i nervne ćelije (izazivajući difteriju, tetanus, botulizam). **Endotoksi** su po hemijskom sastavu lipopolisaharidi. Oslobađaju se tek nakon uginuća mikroorganizama. Izazivaju opštu intoksikaciju organizma. Najaktivniji producenti toksičnih jedinjenja u zemljištu su aktinomicete.

BAKTERIJE KOJE UČESTVUJU U KRUŽENJU AZOTA

Kruženje azota u prirodi odvija se u četiri faze: azotofiksacija, amonifikacija, nitrifikacija i denitrifikacija (slika 192).

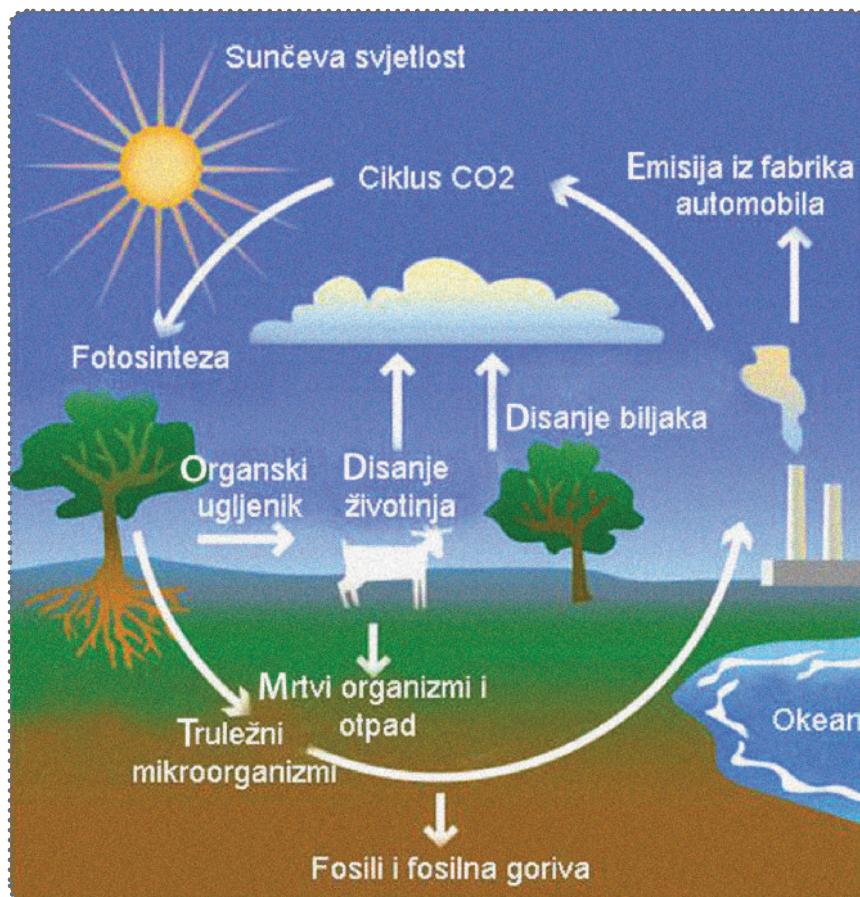


SLIKA 192 – Kruženje azota u prirodi

Azotofiksacija je proces redukcije elementarnog azota u amonijak. Nastali amonijačni azot usvaja biljka i ugrađuje ga u svoje aminokiseline i proteine. Slobodni azotofiksatori žive slobodno u zemljištu ili u rizosferi biljaka. Značajne su za obezbjeđivanje neleguminoznih biljaka azotom. Simbioni azotofiksatori na korijenu stvaraju vidljive tvorevine nodule ili krvžice. Značajne su za snabdijevanje leguminoznih biljaka azotom. Proces razlaganja organske materije do amonijaka zove se **amonifikacija**, a bakterije koje vrše ovaj proces zovu se amonifikatori ili proteolitičke bakterije. Najvažnije bakterije iz ove grupe su vrste iz roda: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Actinomyces*. Proces oksidacije amonijaka do nitrata zove se **nitrifikacija**, a bakterije koje vrše ovaj proces se zovu nitrifikatori. **Denitrifikacija** je proces redukcije nitrata do elementarnog azota, a bakterije koje vrše taj proces se zovu denitrifikatori. Neki denitrifikatori su bakterije iz roda *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Achromobacter*. Koriste nitrati kao akceptore elektrona u procesima anaerobnog disanja.

BAKTERIJE KOJE UČESTVUJU U KRUŽENJU UGLJENIKA

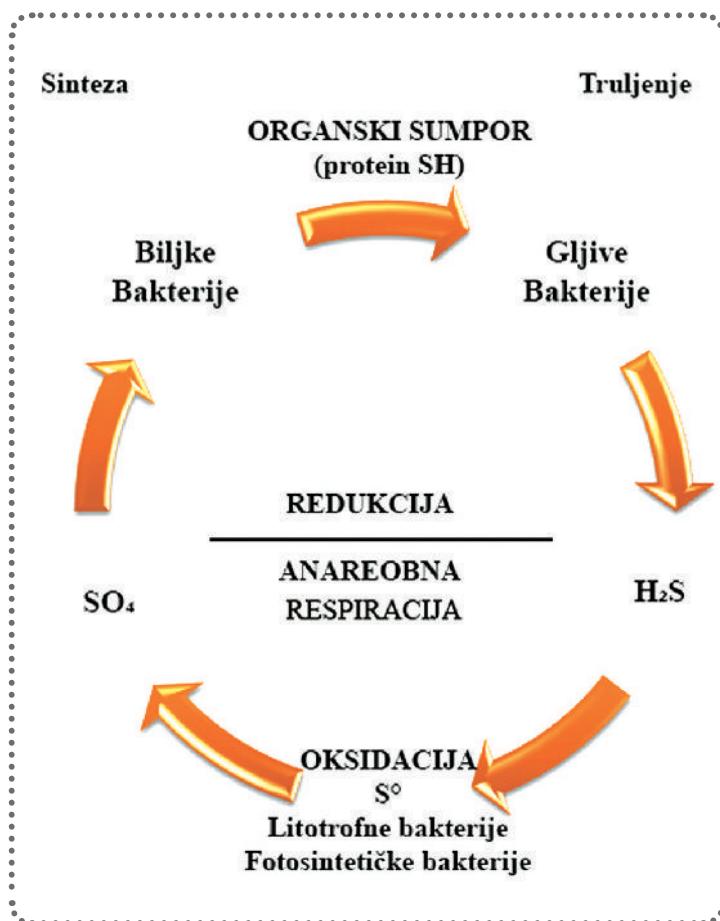
Neke bakterije mogu da razlažu celulozu u prirodi, kao što su bakterije iz rođova: *Cellulomonas*, *Cytophaga*, *Sporocytophaga*, *Cellvibrio*, *Streptomyces*, dok neke imaju sposobnost razlaganja celuloze u buragu (bakterije iz rođova *Ruminococcus*, *Bacteroides*). Razlaganje skroba do glukoze u prirodi vrše vrste iz rođova: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Streptomyces*, a u organizma za varenje vrste iz rođova: *Bacteroides*, *Streptococcus*, *Succinomonas*. Transformacija monosaharida vrši se u toku aerobnih i anaerobnih fermentacija u kojima bakterije dobijaju energiju. Transformaciju monosaharida u mlijecnu kiselinu vrše vrste iz rođova: *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Bifidobacterium*. Cijanobakterije iz ugljendioksida i vode, uz pomoć svjetlosne energije, vrše biosintezu vlastitih ugljenih hidrata (slika 193).



SLIKA 193 – Kruženje ugljendioksida u prirodi

BAKTERIJE KOJE UČESTVUJU U KRUŽENJU SUMPORA

Neke bakterije razlažu organska jedinjenja sumpora do sumporvodonika (*Bacillus*, *Pseudomonas*, *Micrococcus*), neke vrše oksidaciju sumporvodonika do elementarnog sumpora i sulfata (bakterije iz roda *Thiobacterium*), a neke u anaerobnim uslovima vrše redukciju sulfata do sumporvodonika (vrste iz roda *Desulphobacterium*) (slika 194).



SLIKA 194 – Šematski prikaz kruženja sumpora u prirodi

BAKTERIJE KOJE UČESTVUJU U KRUŽENJU FOSFORA

Bakterije mogu da koriste i organski i neorganski oblik fosfora i tako učestvuju u kruženju ovog elementa u prirodi. Neke bakterije transformišu organski fosfor do fosfata (*Bacillus megatherium* var. *phosphaticus*). Fosfate za svoj metabolizam koriste biljke i mikroorganizmi.

PITANJA

1. Koji je značaj mikroorganizama u zemljištu?
2. Koji je značaj mikroorganizama u vodi?
3. Koji faktori utiču na broj mikroorganizama u vazduhu i objasni?
4. Na koji način se može kontaminirati vazduh u zatvorenom prostoru?
5. Koja su posebna svojstva mikroorganizama i objasni.
6. Gdje su aromogeni mikroorganizmi našli primjenu?
7. Koji su aromogeni mikroorganizmi nepoželjni u prehrambenim proizvodima?
8. Šta su egzotoksini i endotoksini mikroorganizama i kako djeluju na domaće životinje?
9. Koja su osnovna svojstva cijanobakterija?
10. Koje bakterije razlažu celulozu?
11. Koje su faze kruženja azota u prirodi?
12. Koje su najznačajnije vrste bakterija amonifikatora?
13. Koje vrste bakterija razlažu celulozu u prirodi, a koje u buragu?
14. Koje vrste bakterija razlažu organsku materiju do sumporvodonika?

PATOGENOST MIKROORGANIZAMA

Patogenost je sposobnost mikroorganizama da izazovu bolest. Patogenost je genetska, fiziološka osobina izvjesnih mikroorganizama, kao što su i način ishrane ili di sanja, tip fermentacije, produkcija pigmenta ili postojanje flagela. Patogeni mikroorganizam (patogen) je mikroorganizam koji ima sposobnost da izazove bolest. Jedan isti soj patogenog mikroorganizma može u različitim uslovima sredine da produkuje mnogo, malo ili da uopšte ne produkuje toksine, iako uvijek ima genetsku osobinu da ih produkuje. Patogenost je stalna i nepromjenljiva osobina izvjesnih vrsta mikroorganizama.

Virulencija predstavlja stepen patogenosti. Virulencija je promjenljiva osobina jednog soja, jer se u zavisnosti od uslova sredine može mijenjati. Patogeni sojevi neke vrste nemaju istu sposobnost da izazovu bolest, što znači da nemaju istu virulenciju. U okviru jedne vrste javljaju se jako virulentni sojevi (kada rastu u povoljnim uslovima), slabo virulentni i nevirulentni sojevi (npr. gajenje bakterija na nepovoljnoj hranljivoj podlozi dovodi do gubitka virulencije). Da li će neki mikroorganizam biti slabije ili jače virulentan zavisi od njegovih osobina, kao što su infektivnost, invazivnost i toksikogenost (toksigenost).

Infektivnost predstavlja sposobnost mikroorganizma da stvori početno žarište na mjestu prodora u organizam. **Invazivnost** podrazumijeva sposobnost mikroorganizma da se sa početnog mesta infekcije proširi u dublja tkiva i da se u njima razmnožava. **Toksikogenost** je sposobnost mikroorganizama da stvaraju toksine, odnosno otrovne materije.

Mikroorganizmi koji mogu da izazovu oboljenja ljudi, životinja i biljaka nazivaju se **patogeni mikroorganizmi**. Oni su sposobni da savladaju prirodnu odbranu organizma i da svojim razmnožavanjem u tkivima izazovu određene promjene. Bolest uslovljavaju: stepen virulencije, broj patogena koji inficiraju domaćina i oslabljena odbrambena sposobnost organizma.

Infekcija predstavlja proces prodiranja i razmnožavanja patogenih mikroorganizama u živi organizam. Do infekcije organizma dolazi nakon kontakta zdravog i bolesnog organizma, ili preko namirnica, vode, vazduha, zemljišta, glodara, insekata. Vremenski period koji prođe od infekcije do pojave prvih simptoma (znakova) bolesti zove se **inkubacioni period ili inkubacija**. Taj period može trajati, zavisno od vrste bolesti, od nekoliko dana do nekoliko mjeseci. Patogeni mikroorganizmi mogu da

uđu samo kroz određena tkiva organizma koja se nazivaju **ulazna mjesta infekcije**. Većina mikroorganizama ne može da savlada prirodnu odbranu organizma i zovu se **apatogeni ili saprofitski mikroorganizmi**. Neki mikroorganizmi koji se normalno nalaze na koži i sluzokoži zdravih ljudi i životinja u određenim uslovima mogu da izazovu oboljenje. Takvi mikroorganizmi se nazivaju **uslovno patogeni mikroorganizmi**. Uslovno patogeni mikroorganizmi postaju patogeni kada oslabi otpornost organizma uslijed dejstva različitih faktora, kao što su: gladovanje, pretjerani napor, klimatski uslovi, životno doba.

Intoksikacija nastaje ako se u organizam unesu toksini koje su mikroorganizmi sintetisali i izlučili u nekoj sredini (npr. hrani). Hrana ne mora sadržavati i same mikroorganizme koji su izlučili te toksine (npr. nastajanje botulizma, stafilokoknih intoksikacija, mikotoksičnosti).

Ukoliko se organizam tokom infekcije ponovo inficira istim uzročnikom, ta se pojava naziva **superinfekcija**. Ako organizam preboli neku infekciju, pa se naknadno inficira istim uzročnikom, nastaje **reinfekcija**. **Recidiv** predstavlja povratak simptoma iste bolesti, što se dešava prilikom slabe imunološke reakcije organizma. Pojava kada se patogeni mikroorganizmi razmnožavaju i izlučuju iz nekog organizma, a da pri tome ne dovode do pojave simptoma bolesti, naziva se **kliconoštvo**. To se dešava poslije nekih infekcija (salmonelama, streptokokama i pasterelama), kada se uspostavlja izvjesna ravnoteža između organizma i mikroorganizma. **Kliconoše** (sijači klica) su organizmi koji nose i izlučuju uzročnike za prijemljive (osjetljive) druge organizme, a sami ne obole. Infekcija se može završiti na tri načina: prezdravljenjem (razvojem imunološke reakcije i isčešavanjem uzročnika iz organizma), prelaskom u hronični oblik (kada se uspostavlja i stanje kliconoštva) ili uginućem inficiranog organizma. **Septikemija** predstavlja prodiranje i razmnožavanje mikroorganizama u krvi. **Sepsa** predstavlja stanje (odgovor organizma) izazvano dejstvom mikroorganizama i njihovih toksina. Kada se mikroorganizam razmnožava lokalno u tkivu i pri tome stvara i izlučuje toksine, ta se pojava zove **toksemija** (npr. tetanus, enterotoksemija izazvana toksinima bakterije *Clostridium perfringens* i dr.)

Otpornost ili rezistencija organizma obuhvata faktore i mehanizme odbrane od patogenih mikroorganizama. Osjetljivost domaćina prema infektivnim oboljenjima se definiše kao nepostojanje otpornosti ili prijemljivost.

FAKTORI PATOGENOSTI MIKROORGANIZAMA

Skup činilaca koji omogućavaju patogenom mikroorganizmu uspješnu invaziju i oštećenje domaćina jesu faktori patogenosti. Mogu se podijeliti u tri grupe: površinske strukture, enzimi i toksini. Oni omogućavaju patogenu širenje i povoljan razvoj infekcije.

Površinske strukture nekih patogenih mikroorganizama imaju ulogu u ometanju fagocitoze, kao jednog od najvažnijih odbrambenih mehanizama domaćina. **Kapsula**, kao površinska tvorevina, faktor je patogenosti kod mnogih bakterija. Sprečava nijihu fagocitozu. **Komponente ćelijskog zida** mikroorganizama imaju ulogu u adherenciji. Adherencija predstavlja sposobnost nekih mikroorganizama da se vežu i kolonizuju tkivo domaćina. Ona je prvi korak u nastajanju infekcija.

Enzimi svojim dejstvom olakšavaju invazivnost patogena. Najinvazivnije bakterije su stafilokoke i streptokoke. Sintetišu enzim hijaluronidazu, koji razlaže hijaluronsku kiselinu, vezivnu supstanцу koja povezuje tkiva i tako olakšava širenje infekcije na okolna tkiva. U procesu invazije učestvuju i mnogi drugi enzimi, kao na primjer mucinaza koja napada sluzokožu crijeva.

Toksini su otrovne materije koje oštećuju tkivo domaćina. Stvaraju ih patogeni mikroorganizmi. Imaju dvojako dejstvo: razlaganje ćelijskih sastojaka ili interferencija sa specifičnim ćelijskim funkcijama. Svrstavaju se u dvije grupe: egzotoksine i endotoksine. **Egzotoksini** su proteinske prirode, izlučuju se iz žive ćelije u spoljašnju sredinu i tamo ispoljavaju svoje dejstvo. Egzotoksine stvaraju uglavnom gram pozitivne bakterije i neke gljive. U malim količinama djeluju kao veoma jaki otrovi i nestabilni su na dejstvo visokih temperatura. Djeluju na specifičan način. Na primjer, *Clostridium tetani* kada dospije u tijelo domaćina, sintetiše toksin koji djeluje na nervne ćelije, izaziva grčenje mišića za žvakanje, mišića vrata, grudnog koša i na kraju dolazi do smrti domaćina. Neki egzotoksini imaju osobine enzima. Toksin stafilokoka ima hemolitičko dejstvo (razlaže eritrocite), dok *Clostridium* vrste imaju hidrolitički enzim kolagenazu koji razlaže kolagen mišića, što uzrokuje raspadanje tkiva, lakše prodiranje i veću invazivnost patogena. Egzotoksini su odlični antigeni. Na visokim temperaturama gube toksičnost, ali ne i antigenost, zbog čega se novonastale supstance – tzv. **toksoidi** koriste za vještačku imunizaciju. **Endotoksini** su lipopolisaharidi, i za razliku od egzotoksina, sastavnici su dio ćelije. Vode porijeklo od spoljašnjeg sloja ćelijskog zida i ne izlučuju se u spoljašnju sredinu. Nalaze se kod gram negativnih bakterija. Odlikuju se velikom otpornošću na visoke temperature. Izolovani su iz gotovo svih patogenih enterobakterija koje čine prirodnu floru digestivnog trakta (*Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia*). Endotoksini dovode i do oštećenja krvotoka. Izazivaju endotoksični šok koji se ispoljava kao groznica, pad krvnog pritiska, krvarenje i dr.

Faktori patogenosti *S. aureus* su: faktori adherencije, toksini: alfa, beta, delta, leukocidin, enzimi (hijaluronidaza, katalaza, fosfataza, proteinaza, lipaza, esteraza, koagulaza). *S. aureus* izaziva različita gnojna zapaljenja, kao što su: apscesi, osteomijelitis, meningitis, endokarditis, pneumonije, trovanja (stvara termostabilne enterotoksine).

Faktori patogenosti *S. agalactiae* su: faktori adherencije, toksini (hemolizini, streptolizini O i S, leukocidin), enzimi: streptokinaza, fibrinolizin, hijaluronidaza, dezoksiribonukleaza. *S. agalactiae* izaziva neonatalne sepse i smrt novorođenčadi, gnojna zapaljenja (artritis, konjuktivitis, pneumonije, meningitis, zapaljenja urogenitalnog trakta).

Faktori patogenosti *E. coli* su: faktori adherencije (fimbrije, antigeni K 88 i K 99), toksini (enterotoksini, endotoksin, neurotoksin), enzimi (hemolizini: alfa i beta), kolicini (bakteriostatsko dejstvo). *E. coli* izaziva septikemije, gastroenteritis, dispepsije.

ODBAMBENI MEHANIZMI DOMAĆINA

Ovi mehanizmi imaju ulogu da sprječe invaziju mikroorganizama, doprinoseći na taj način otpornosti organizma. Postoje urođeni (nespecifični) i stečeni (specifični) mehanizmi odbrane domaćina.

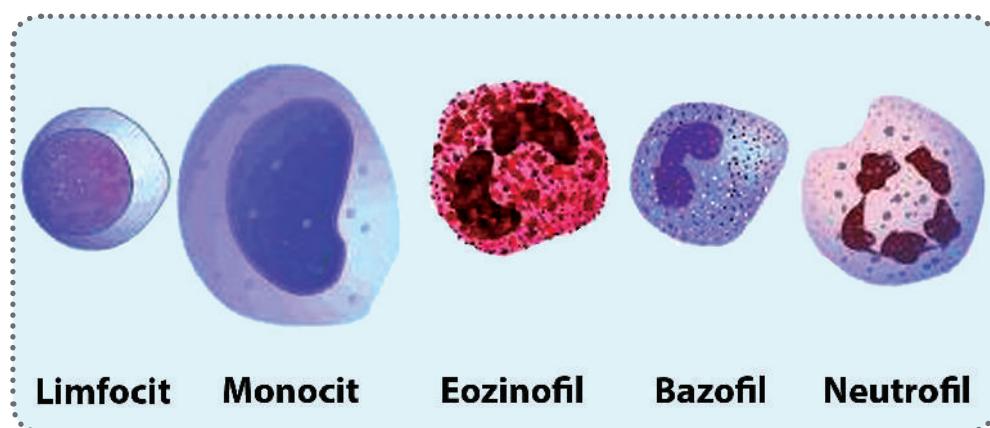
UROĐENI MEHANIZMI ODBRANE DOMAĆINA

Urođeni – nespecifični mehanizmi odbrane djeluju odmah poslije prvog kontakta organizma sa stranom materijom. Oni predstavljaju nespecifičan odgovor domaćina na invaziju stranih molekula. To su genetski regulisani faktori koji odmah prepoznaju „stranu“ od „sopstvene“ materije i nije potrebno specifično, ponovno prepoznavanje. Ovi mehanizmi uslovljeni su nekim osobinama jedinke ili vrste (nasljeđe, starost, ishrana, hormoni) i obuhvataju: mehaničke barijere (koža, sluzokoža), fagocitozu, sintezu antimikrobnih supstanci i zapaljenje. Za razliku od specifične reakcije, u nespecifičnim reakcijama učestvuje manji broj ćelija i humoralnih (hemijskih) faktora i nema imunološkog pamćenja.

Fagocitoza

Mikroorganizmi koji su uspjeli da savladaju mehaničke prepreke domaćina (koža, sluzokoža, sekreti) dospijevaju u tkivne tečnosti i krvotok, gdje bivaju izloženi dejstvu specijalnih ćelija – fagocita („ćelije koje gutaju“). One su sposobne da unesu strane molekule u svoju citoplazmu i razlože ih svojim enzimima. Fagocitoza pred-

stavlja efikasan odbrambeni mehanizam, koji djeluje odmah čim dođe do kontakta sa štetnim činiocem. Fagocitoza se sastoji iz nekoliko faza: lijepljenje mikroorganizma za membranu fagocita, izduživanje pseudopodija, smještanje mikroorganizma u vakuolu koja se zove fagozom, spajanje fagozoma sa lizozomom. Enzimi djeluju na mikroorganizme i izazivaju njihovu dezintegraciju, čime je sprječena pojava infekcije tim mikroorganizmom. U fagocitozi učestvuju dva tipa fagocita – **neutrofili i monociti**, koji predstavljaju specijalizovane leukocite (slika 195).

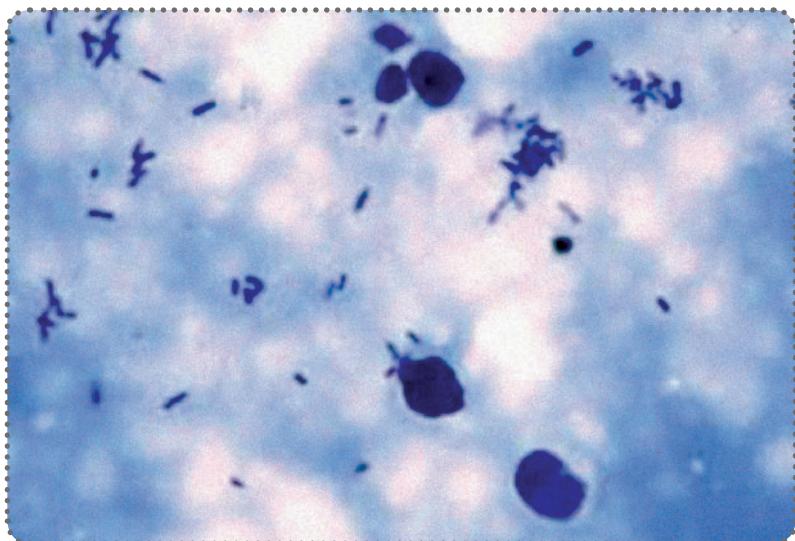


SLIKA 195 – Leukociti – bijela krvna zrnca
(<http://www.biologija.rs/leukociti.html>)

Leukociti – bijela krvna zrnca, zajedno sa eritrocitima i trombocitima predstavljaju ćelije krvi. Stvaraju se u koštanoj srži. Usljed ameboidnog kretanja, oblik leukocita u cirkulaciji se stalno mijenja. Prema obliku jedra, prisustvu granula i sposobnosti da primaju boje, leukociti se dijele u dvije grupe: granulociti i agranulociti.

Granulociti imaju segmentirano jedro i zrnaste tvorevine – granule u citoplazmi. Prema sposobnosti granula da primaju boje, granulociti se dijele na: **neutrofilne, eozinofilne (acidofilne) i bazofilne leukocite** (slika 195). Neutrofilni granulociti (neutrofili, mikrofagi) se boje neutralnim bojama. Jedro im je sastavljeno iz 2–5 režnjeva povezanih međusobno filamentima, pa se još nazivaju i „polimorfonuklearni leukociti“. U odbrani organizma od mikroorganizama i drugih stranih tijela neutrofili imaju najvažniju ulogu. Javljuju se u velikom broju na mjestu gdje se razvija zapaljenjski proces, pri čemu fagocituju bakterije i druge strane partikule (slika 196). U toku jakih (akutnih) infekcija, broj neutrofila u krvi se povećava. Imaju veoma izraženu sposobnost ameboidnog kretanja – dijapedeze, odnosno izlaska iz cirkulacije u tkiva kroz zidove kapilara i sposobnost fagocitoze.

Agranulociti – limfociti i monociti imaju okruglo jedro i citoplazma im nije granulirana. **Limfociti** su male okrugle ćelije čije jedro potpuno ispunjava ćeliju, a citoplazma je svedena na uzan prsten na periferiji. Imaju važnu ulogu u sintezi antitijela – imunoglobulina. **Monociti** – makrofagi su znatno većih dimenzija i imaju više citoplazme od limfocita (slika 195). Imaju izraženu sposobnost ameboidnog kretanja, dijapedeze i fagocitoze. Služe prvenstveno za odstranjivanje ostataka raspadnutog tkiva. Pokretni monociti se nalaze u krvi i limfi. Nakon što izađu iz cirkulacije, postaju nepokretni i takvi se mogu naći u tkivu jetre, slezine i u koštanoj srži.



SLIKA 196 – Bakterije i somatske ćelije u razmazu mlijeka krave sa mastitisom (bojenje po Gimzi, uvećanje mikroskopa 1000x)
(<http://www.foxvalleyqlab.com/library/resources/DMSCCSupplementalInformation.pdf>)

Antimikrobne supstance

Ove supstance, koje luči organizam, imaju baktericidno ili viricidno dejstvo, a nalaze se: u pljuvačci, sekretu nosne sluzokože, suzama i različitim tkivnim tečnostima. Jedna od tih antimikrobnih supstanci je enzim **lizozim**, koji hidrolizuje ćelijski zid bakterija. Ćelije domaćina inficirane virusom, sintetišu supstancu proteinske prirode koja se naziva **interferon**. Interferon sprečava replikaciju virusa i na taj način štiti ćelije od virusne infekcije.

Zapaljenje

Pod zapaljenjem se podrazumijeva niz promjena u tkivu koje se dešavaju nakon lokalnog nadražajnog djelovanja nekog štetnog agensa na tkivo. Te se promjene is-

poljavaju oštećenjem tkivnih elemenata (*alteratio*), izlaskom tečnog dijela i ćelija krvi (*exudatio*) i umnožavanjem ćelija vezivnog tkiva na mjestu zapaljenja (*proliferatio*). Zapaljenje se može definisati i kao skup zaštitnih reakcija organizma na prisustvo i razmnožavanje mikroorganizama, ili na povredu tkiva drugim faktorima. Zapaljenske reakcije započinju aktiviranjem enzima koji iz proteina krvne plazme oslobođaju specifične molekule (kinine, histamine i dr.). Kinini i histamini povećavaju propustljivost krvnih sudova. Posljedica toga je povećanje protoka krvi i izlazak tečnosti u okolna tkiva, što izaziva otok, crvenilo i bol oštećenog tkiva (zapaljenje). Opisane reakcije omogućavaju da se fagociti kreću prema mjestu upale, gdje fagocituju strane supstance, mikroorganizme i djelove raspadnutog tkiva. Na mjestu upale sakupljaju se i limfociti, koji učestvuju u stvaranju antitijela, čime se povećava odbrambena sposobnost organizma.

STEČENI ODBRAMBENI MEHANIZMI – IMUNI ODGOVOR

Stečeni – specifični odbrambeni mehanizmi se razvijaju poslije prvog kontakta organizma sa stranom materijom ili patogenim mikroorganizmom. Kada ponovo dođu u kontakt sa istom stranom materijom, razvijeni humoralni i ćelijski faktori na specifičan način prepoznaju tu stranu materiju. U specifičnoj imunološkoj reakciji učestvuje više vrsta ćelija i njihovih proizvoda.

Imuni odgovor je specifična reakcija organizma na prisustvo antigena (strane materije), koja se manifestuje stvaranjem antitijela. Stvorena antitijela imaju sposobnost da neutrališu efekat antiga. Podstaknut antigenskim stimulusom, organizam reaguje stvaranjem antitijela – humoralna (biohemija) imunološka reakcija i pojavom senzibilisanih T limfocita i olakšanom fagocitozom – ćelijska imunološka reakcija. Humoralne i ćelijske imunološke reakcije su u tjesnoj međusobnoj vezi. Pored odbrambene uloge, imuni odgovor može dovesti do reakcija preosjetljivosti – alergije, a može biti usmjeren i protiv ćelija presaćenih tkiva i organa. U nekim slučajevima organizam ne reaguje imunološkom reakcijom. Do izostanka imunološke reakcije može doći zbog imunosupresije ili imunološke tolerancije.

Imunosupresija predstavlja opšte smanjenje imunološke reakcije organizma. Mogu je uzrokovati antibiotici, kortikosteroidi i dr.

Imunološka tolerancija predstavlja areaktivnost prema određenom antigenskom stimulusu. Postoji više faktora koji mogu dovesti do tolerancije: starost životinja, doza i oblik antiga, način aplikovanja antiga i dr. Obično se tolerancija javlja kod novorođenih životinja, jer im imunološki sistem nije dovoljno razvijen.

ANTIGENI

Antigeni su supstance koje izazivaju stvaranje antitijela, odnosno imuni odgovor čovjeka i životinja. Antigeni su makromolekuli – proteini, polisaharidi, nukleinske kiseline. Visoka specifičnost imunog odgovora, odnosno reakcije antigen – antitijelo određena je hemijskom strukturom antiga. **Haptenci** (nepotpuni antigeni) su specifične supstance koje same po sebi nisu sposobne da izazovu imuni odgovor organizma, već jedino kad se vežu za odgovarajući proteinski molekul. Protein za koji se haptenu vezuje naziva se **nosač**. **Adjuvansi** su nespecifične supstance koje pojačavaju antigenost slabih antigena (npr. životinjski ugalj, lanolin, parafinsko ulje, aluminijum hidroksid). Većina adjuvanasa usporava razgradnju antiga i održava tokom dužeg vremena niske, ali ipak efikasne koncentracije antiga u tkivima. Tačna imunizacija naziva se depo imunizacija. Mikroorganizmi imaju veliki broj različitih antigena koji mogu izazvati imuni odgovor. Čelijski zid bakterija sadrži O antigen, flagela – H antigen, kapsula – K antigen. Egzotoksični i endotoksični i njihove modifikacije (toksidi) takođe imaju antigena svojstva.

Antigene determinante (specifične hemijske grupe na antigenu) reaguju sa antitijelom. Na istom antigenu mogu da se nalaze različite antigene determinante. To znači da jedan antigen sa većim brojem antigenih determinanti može indukovati stvaranje različitih antitijela. S druge strane, antitijela su monospecifična, imaju samo jednu vrstu reaktivnih mesta.

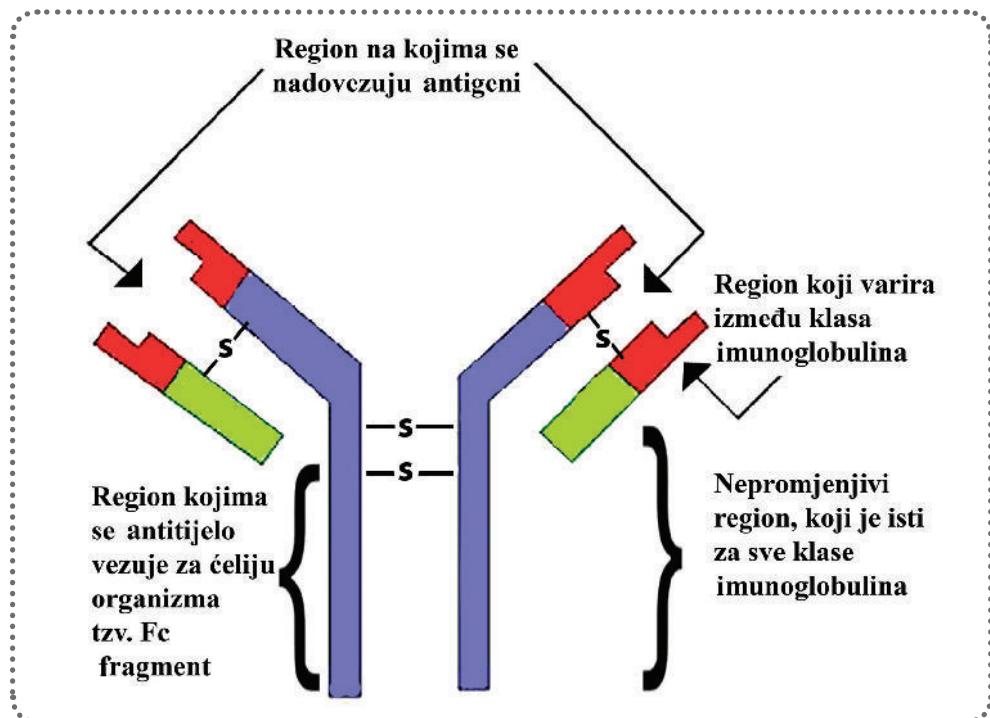
EFEKTORI HUMORALNE IMUNOLOŠKE REAKCIJE

Efektori humorale imunološke reakcije su antitijela i cirkulišući efektorski proteini (komplement).

ANTITIJELA

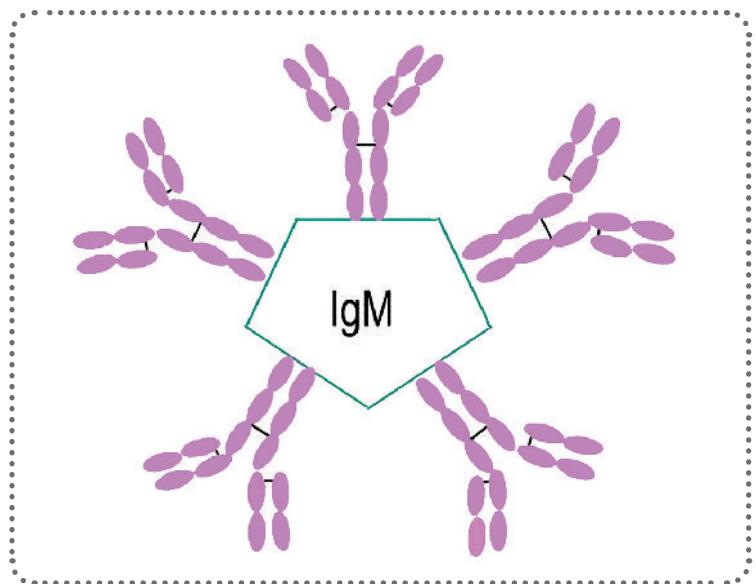
Antitijela su proteini koje stvara organizam kao odgovor na prisustvo antiga. Pripadaju grupi proteina koji se nazivaju **imunoglobulini** (Ig). Imunoglobuline sekretuju plazma ćelije koje se diferentiju iz B limfocita. Jedinicu molekula imunoglobulina čine dva laka (kraća) i dva teška (duža) polipeptidna lanca, koji su međusobno povezani disulfidnim vezama. Svaki polipeptidni lanac sastoji se od jednog stalnog i jednog promjenljivog regiona. Djelovi promjenljivog (varijabilnog) regiona su aktivna mesta, preko kojih se antitijelo vezuje za antigene determinante u reakciji antigen – antitijelo. Za razliku od stalnih, kod varijabilnih regiona se nalaze različite sekvence aminokiselina, jedinstvenih za svako antitijelo. Molekul antitijela se sastoji od dva fragmenta: Fab (*antigen binding fragment* – fragment koji vezuje antigen) i

Fc (*crystallizable fragment* – fragment koji kristalizuje) (slika 197). U Fc fragmentu se nalaze mjesta za vezivanje komplementa i fagocita. Na osnovu strukture molekula, imunoglobulini su podijeljeni u **pet klase**: imunoglobulini G (IgG), imunoglobulini M (IgM), imunoglobulini A (IgA), imunoglobulini D (IgD) i imunoglobulini E (IgE). **Imunoglobulini G** čine većinu serumskih imunoglobulina. Slobodni molekul IgG ima oblik slova T, a nakon vezivanja za antigen ima oblik slova Y (slika 197).



SLIKA 197 – Struktura antitijela IgG

Imunoglobulini M su sastavljeni od pet molekula imunoglobulina. Svaki molekul (monomer) je građen od dva teška i dva laka lanca međusobno vezana disulfidnim vezama (slika 198). Po zastupljenosti u krvnom serumu IgM su na drugom mjestu (poslije IgG). Prilikom imunizovanja oni su prva klasa imunoglobulina koja se može otkriti.



SLIKA 198 – Struktura IgM – pentamer

(<https://www.msu.edu/~brooks/IgM.htm>)

Imunoglobulini A se javljaju kao monomeri, dimeri, trimeri ili polimeri. Značajni su u zaštiti sluzokože, jer sprečavaju vezivanje mikroorganizama za površinu epitela. Sintetišu se lokalno, u B limfocitima submukoze. Prolaskom kroz epitelne ćelije ka površini sluzokože, dobijaju sekretornu komponentu koja ih štiti od proteolitičkog dejstva enzima. Formirani u ovom obliku nazivaju se sekretorni IgA (sIgA).

KOMPLEMENT

U mnogim reakcijama antigen – antitijelo značajnu ulogu ima komplement. Komplement je sistem nekoliko **bjelančevina** u krvnoj plazmi, koji se u određenim uslovima može vezati za kompleks antigen – antitijelo i tako učestvovati u odbrani organizma od infekcije. Sintetišu ga različite tjelesne ćelije, a naročito ćelije jetre i makrofagi. Zajedno sa antitijelima predstavlja elemenat humoralne imunološke reakcije. Za razliku od antitijela, čija je uloga u reakciji specifična, on predstavlja nespecifičan faktor. Nakon vezivanja komplementa za antigen – antitijelo kompleks, dolazi do njegove aktivacije i vezivanja za ćelijske membrane (membrane bakterija ili tjelesnih ćelija), što za posljedicu ima njihovo oštećenje i smrt. Stvaranjem kompleksa antigen – antitijelo, na Fc regionu antitijela otkrivaju se mesta za vezivanje komplementa. Nakon vezivanja, aktiviranje komplementa se dešava postupno, tako da jedan sastojak aktivira nekoliko sljedećih u nizu. Postoje dva načina aktiviranja

komplementa, klasični i alternativni. Aktivacija komplementa na **klasični način** dešava se od strane imunokompleksa antigen – antitijelo. Aktivacija komplementa na **alternativni način**, nastaje direktno nekim bakterijskim polisaharidima, bez antitijela, i predstavlja brzi odbrambeni mehanizam bez prethodnog razvoja specifičnog imuniteta. U klasičnom putu aktiviranja komplementa učestvuje **devet proteina**, koji su označeni oznakama od C1 do C9. Slobodna antitijela ne mogu aktivirati komplement, već tu sposobnost stiće tek kad se spoje s antigenom u imunokompleks. Komplement takođe ima ulogu u olakšavanju fagocitoze, jer bakterije za koje su se vezali imunoglobulini i komplement, lako prihvataju fagociti – opsonizacija. Ova uloga komplementa je takođe značajna i pri fagocitozi gram negativnih bakterija, koje aktivisu komplement na alternativni način.

MEHANIZAM IMUNOLOŠKE REAKCIJE ORGANIZMA

Imuni sistem čine ćelije i tkiva koji učestvuju u imunom odgovoru. U toku imunog odgovora, limfociti djeluju uz pomoć fagocita – makrofaga. Makrofagi nakon fagocitoze i enzimske lize mikroorganizama oslobađaju antigene, koji indukuju stvaranje antitijela u limfocitima. Postoje dva tipa limfocita: B tip i T tip. B limfociti su dobili naziv po *Bursa fabricii* (naziv se podudara i sa koštanom srži – engl. *bone marrow*), jer se diferenciraju i postaju imunološki zreli u tom organu ptica odnosno koštanoj srži sisara. Imunološko sazrijevanje T limfocita zavisi od timusa, po čemu su dobili oznaku T. B i T limfociti na površini imaju receptore za vezivanje antigena. Nakon reakcije sa antigenom, ćelije B tipa se transformišu u plazma ćelije – **plazmocite**, koji sintetišu i u krv izlučuju specifična **antitijela** prema antigenu sa kojim su reagovale. Svaka ćelija sintetiše samo po jedan tip imunoglobulina. Spajanje antigena sa antitijelima je dodatni podsticaj za umnožavanje B ćelija i visoku produktivnost antitijela. Specifična antitijela „plove“ kroz organizam i, nakon vezivanja za antigen, daju signal komponentama imunološkog sistema: komplementu ili polimorfonuklearima za vezivanje i uništavanje nastalog kompleksa antigen – antitijelo. Opsonini su antitijela, koja nakon vezivanja sa antigenom vrše njegovu opsonizaciju, tako što se svojim Fc područjem vezuju za fagocite. Ova antitijela su naročito značajna u opsonizaciji bakterija. Najviša koncentracija (titar) antitijela se javlja nakon 2–3 nedjelje od stimulacije specifičnog imunološkog odgovora.

EFEKTORI ĆELIJSKE IMUNOLOŠKE REAKCIJE

Efektori čelijske imunološke reakcije su T limfociti i makrofagi.

T limfociti

Ćelije T tipa (T limfociti) stupaju u direktni kontakt sa mikroorganizmima ili izmijenjenom ćelijom i vrše neutralizaciju antiga ili ispoljavaju citotoksičan efekat, odnosno ubijaju mikroorganizam ili izmijenjenu ćeliju organizma domaćina. Imunokompetentne T ćelije nose na svojoj površini molekule koji prepoznaju specifični antigen. Ovaj proces se naziva čelijski imuni odgovor. Senzibilisani T limfociti produkuju rastvorljive supstance – citokine (interleukine, limfokine), kojima stimulišu B ćelije u sintezi specifičnih antitijela, kao i makrofage u sintezi enzima lizozima, što povećava efikasnost fagocitoze. Limfocini mogu dovesti do direktnog razaranja stranih ćelija, bakterija ili virusa, aktivacije komplementa itd.

Citokini su, pored molekula antitijela, najvažniji sekretorni proizvodi ćelija imunskog sistema. To su glikoproteini koji djeluju kao posrednici u komunikaciji ćelija imunskog sistema. Kako je većina citokina produkt leukocita (makrofaga ili T ćelija) i djeluju na druge leukocite, nazivaju se i interleukini. Citokine izlučuju različite ćelije, kao što su limfociti, makrofagi, fibroblasti (ćelije vezivnog tkiva), ali i druge ćelije izvan imunskog sistema. Nakon što citokini predaju informaciju ciljnoj ćeliji, aktivacijom određenih gena dolazi do njenih fenotipskih ili funkcionalnih promjena. Citokini regulišu rast i diferencijaciju ćelija imunskog sistema, T i B limfocita i makrofaga, a isto tako i jačinu i trajanje zapaljenja. **Interferoni** su citokini koje stvaraju ćelije kao odgovor na virusnu infekciju. Oni sprečavaju – blokiraju replikaciju virusa. Interferoni, proizvedeni kao odgovor na jednu virusnu infekciju, pružaju zaštitu ćelijama i od drugih virusnih infekcija.

Imunološko pamćenje

Imuni odgovor humoralnog ili čelijskog tipa je brži i efikasniji poslije drugog izlaganja antigenu. Ta osobina zasniva se na sposobnosti imunog odgovora da sačuva „pamćenje“ na dodir sa antigenom. Kod imunog odgovora može se razlikovati primarni odgovor, koji je rezultat prvog kontakta domaćina sa stranom materijom – antigenom, i sekundarni odgovor, koji se javlja kada se antigen ponovo nađe u organizmu domaćina. Specifične ćelije domaćina (plazma ćelije – ćelije pamćenja) „pamte“ da su bile u kontaktu sa antigenom i pripremljene su na brz i tačan odgovor.

Imunizacija

Imunizacija je indukcija imuniteta – otpornosti prema infektivnim bolestima. Imunizacija može biti aktivna i pasivna, vještačka i prirodna. Vještačka aktivna imuni-

zacija se postiže primjenom **vakcina** (sadrže antigene), a pasivna primjenom **imunih serum** (sadrže antitijela). Dakle, aktivni imunitet se postiže ukoliko se jedinici ubrizga antigen (vakcina) koji indukuje stvaranje antitijela. Vještački pasivni imunitet se postiže primjenom krvnog seruma uzetog iz imunizovane jedinke, čija krv sadrži već stvorena – gotova antitijela. Ova „tuđa“ antitijela privremeno štite organizam od dejstva određenog patogenog mikroorganizma – bez obzira što ne sintetiše sopstvene antigene.

Vakcine su preparati napravljeni od oslabljenih ili ubijenih (mrtvih) patogenih mikroorganizama (bakterija ili virusa) ili od nekog njihovog strukturnog dijela, ili njihovih toksina, koji, kada se unesu u organizam, stimulišu stvaranje antitijela i aktivnost celularnog imuniteta protiv patogena. Ovi preparati, kao takvi, ne mogu da izazovu oboljenje. Prema tome, vakcine se mogu pripremati od živih mikroorganizama (atenuirani – oslabljeni mikroorganizmi), čija je virulentnost oslabljena različitim fizičkim i hemijskim agensima, gajenjem na specijalnim podlogama itd. Druga vrsta su vakcine pripremljene od mrtvih mikroorganizama koji su sačuvali antigena svojstva. Treća vrsta vakcina su toksoidi, dobijeni tretiranjem toksina patogenih mikroorganizama toplotom ili hemijskim agensima, što dovodi do gubitka njihove toksičnosti, ali ostaju imunogene determinante. Blagovremenom vakcinacijom danas je moguće spriječiti veliki broj bakterijskih i virusnih bolesti. Vakcine koje se koriste u borbi protiv virusnih infekcija najčešće sadrže mrtve virusne ili virusnu nukleinsku kiselinu, koji pokreću proizvodnju interferona. Do 1980. godine interferon se izdvajao iz humanih ćelija, dok se danas proizvodi genetičkim inženjeringom. Na ovaj način se ljudski gen za interferon ugrađuje u genom bakterija koje tada proizvode pomenuti protein.

Prirodna aktivna imunizacija organizma se postiže nakon njegovog prirodnog kontakta sa antigenima. Prirodna pasivna imunizacija se postiže kod fetusa (prolaskom antitijela majke kroz placenu) i kod novorođenčadi (unošenjem antitijela majke sa kolostrumom i mlijekom u digestivni trakt novorođenčeta).

REAKCIJA PREOSJETLJIVOSTI

Reakcija preosjetljivosti, alergija, patološki je efekat imunog odgovora koji šteti organizmu. Umjesto sekundarne odbrambene reakcije pri ponovnom kontaktu sa antigenom, u organizmu dolazi do promjena koje dovode do oštećenja tkiva, a mogu se završiti i smrću. Alergija može imati različite manifestacije, kao što su ekzem, reumatska groznica, polena kijavica, astma, anafilaktički šok itd. Osnovni mehanizam kod većine reakcija preosjetljivosti zasniva se na tome da kompleks antigen – antitijelo stimuliše oslobođanje farmakološki aktivnih materija iz mastocita (histamina, npr.), koje dovode do grčenja muskulature bronhija i prestanka disanja.

Mastociti su ćelije porijeklom iz koštane srži, odakle putem cirkulacije dolaze do vezivnog tkiva, gdje dovršavaju sazrijevanje. Mastociti mukoze (sluzokože) digestivnog i respiratornog trakta u granulama sadrže histamin, serotonin, kinine, prostaglandine i dr. Histamin, kinini i prostaglandin su vazodilatatori, dok histamin i prostaglandini imaju i spazmogeno dejstvo. Serotonin izaziva skupljanje krvnih sudova i povećanje krvnog pritiska. Mastociti na površini imaju receptore koji vežu IgE, što nakon reagovanja sa alergenom uzrokuje degranulaciju mastocita. **Alergeni** su antigeni (imunogeni) koji izazivaju stanje preosjetljivosti – alergiju.

PITANJA

1. Šta se podrazumijeva pod patogenošću mikroorganizama?
2. Šta su patogeni, a šta saprofitski mikroorganizmi?
3. Šta su uslovno patogeni mikroorganizmi?
4. Šta je virulencija mikroorganizama?
5. Šta je inkubacija?
6. Šta je infekcija?
7. Šta je kliconoštvo?
8. Šta su kliconoše?
9. Šta je septikemija?
10. Šta je toksemija?
11. Koji su faktori patogenosti mikroorganizama i objasni njihovu ulogu?
12. Šta su egzotoksini i endotoksini mikroorganizama?
13. Koji su faktori patogenosti *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* i *Escherichia coli*?
14. Koji su održbeni mehanizmi domaćina?
15. Koji su urođeni mehanizmi odrbrane domaćina i objasni njihovu ulogu.
16. Šta su leukociti i koje vrste leukocita postoje?
17. Šta je imuni odgovor?
18. Koji su stečeni mehanizmi odrbrane domaćina?
19. Šta su antigeni?
20. Šta su antitijela i koje ćelije ih sintetišu?
21. Koje klase imunoglobulina postoje i po čemu se razlikuju?
22. Šta su fagociti?
23. Koji su efektori humoralne imunološke reakcije?
24. Koji su efektori ćeljske imunološke reakcije?

25. Opiši mehanizam imunološke reakcije organizma.
26. Šta je komplement i koja je njegova uloga?
27. Šta predstavlja imunološko pamćenje?
28. Šta je imunizacija i kako se postiže?
29. Kako nastaje aktivni, a kako pasivni imunitet?
30. Šta su vakcine i kako se pripremaju?
31. Šta je alergija?
32. Šta je imunološka tolerancija i zašto se javlja?
33. Šta je imunosupresija i koji je faktori mogu izazvati?
34. Šta su citokini?

SPECIJALNI DIO

..... MIKROORGANIZMI – TROVAČI HRANE

Pod pojmom trovanja hranom podrazumijeva se oboljenje gastrointestinalnog trakta ljudi i životinja, nastalo kao posljedica konzumiranja hrane koja sadrži otrovne (toksične) materije, biološke ili hemijske prirode. Otrovne supstance koje stvaraju mikroorganizmi nazivaju se toksini. Trovanja hranom se dijele na: alimentarne toksoinfekcije (toksikoinfekcije) i alimentarne intoksikacije.

Toksoinfekcije nastaju poslije konzumiranja hrane u kojoj se nalaze živi mikroorganizmi, koji se u digestivnom traktu razmnožavaju i stvaraju jedan ili više toksina, kojima oštećuju tkiva ili funkciju pojedinih organa.

Alimentarne intoksikacije nastaju kao posljedica konzumiranja hrane koja sadrži specifične toksine koje su stvorili neki mikroorganizmi tokom njihovog razmnožavanja u namirnici. Dakle, za nastajanje alimentarnih intoksikacija nije potrebno unošenje živih ćelija mikroorganizama.

Trovanja hranom izazivaju tzv. specifični (obligatni, klasični) trovači – bakterije koje stvaraju egzo i endotoksine. To su: salmonele, enterotoksogene stafilokoke, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni*, *Vibrio cholerae*, *Cronobacter sakazakii*, enterohemoragične *E. coli* (*E. coli* 0157:H7) i dr.

SPECIFIČNI (KLASIČNI) TROVAČI HRANE

Rod Salmonella

Salmonellae (*Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*) su najčešći uzročnici trovanja hranom. Ove bakterije stvaraju enterotoksin (endotoksin) i izazivaju tzv. toksoinfekcije. Broj unijetih živih ćelija salmonela utiče na dužinu perioda inkubacije, kao i jačinu oboljenja. Ukoliko je njihov broj veći, inkubacija je kraća. Za nastanak oboljenja je važna i vrsta, kao i serotip salmonele koja je dospjela u organizam. Salmonele se normalno nalaze u digestivnom traktu ljudi i životinja. To su gram negativni, kratki, tanki, pokretni štapići. Nepokretne su jedino *Salmonella Pullorum* i *Salmonella Gallinarum*. *S. Typhimurium* je u stanju da za 36 časova prodre sa površine mesa u komadu u dubinu od 15 cm. Optimalni pH za njen rast je 7,0–7,4, optimalna temperatura 37°C. Aerobne su, asporogene, ne razlažu laktozu i

saharozu. Imaju dvije vrste antigena: O – somatski, vezan za tijelo i H – cilijski, vezan za treplje bakterija. Na osnovu zajedničkog O antigena, salmonele se dijele u grupe označene velikim slovima abecede: A, B, C, D itd. Ukoliko se u hrani nalaze u manjem broju, ubija ih temperatura od 70°C u trajanju od 10 minuta. Međutim, kada se nalaze u većem broju (10^8 – 10^{10} cfu/g), pokazuju veću termorezistentnost. Na 20°C salmonele se veoma brzo razmnožavaju.

Salmoneliza je oboljenje ljudi koje izaziva preko 2400 serotipova salmonela. Manifestuje se poremećajima u gastrointestinalnom traktu. Simptomi salmoneloze mogu biti opšti, kao što su abdominalni bol, groznica, muka, povraćanje i dijareja i specifični – koji se odlikuju dehidratacijom organizma, glavoboljom i pojavom krvi u stolici. Rijetko se manifestuje u vidu artritisa i apscesa. Obično poslije nekoliko dana dolazi do ozdravljenja, ali se u težim slučajevima trovanja mogu završiti i smrću. Trovanja ljudi salmonelama najčešće nastaju poslije konzumiranja nedovoljno termički tretiranog mesa, mlijeka, proizvoda na bazi sirovog mlijeka i jaja. Veliki značaj u pojavi alimentarnih trovanja salmonelama ima kontaminacija termički tretiranih proizvoda sirovim proizvodima. Salmonele su relativno rezistentne na faktore spoljašnje sredine. Mogu da rastu pri temperaturama od 6,3 do 45°C, aktivnosti vode nižoj od 0,94, pH između 4 i 8 i pri smanjenoj koncentraciji kiseonika. Termolabilne su i uspješno ih uništava režim pasterizacije, izuzev *S. Senftenberg* koja se uništava pri temperaturi od 70°C u trajanju od 10 minuta. Relativno su otporne na sušenje, soljenje i dimljenje. Kao rezultat ovih osobina, salmonele se mogu dokazati u različitim vrstama hrane i zajedno sa kampilobakterom, danas čine najznačajnije uzročnike alimentarnih oboljenja ljudi.

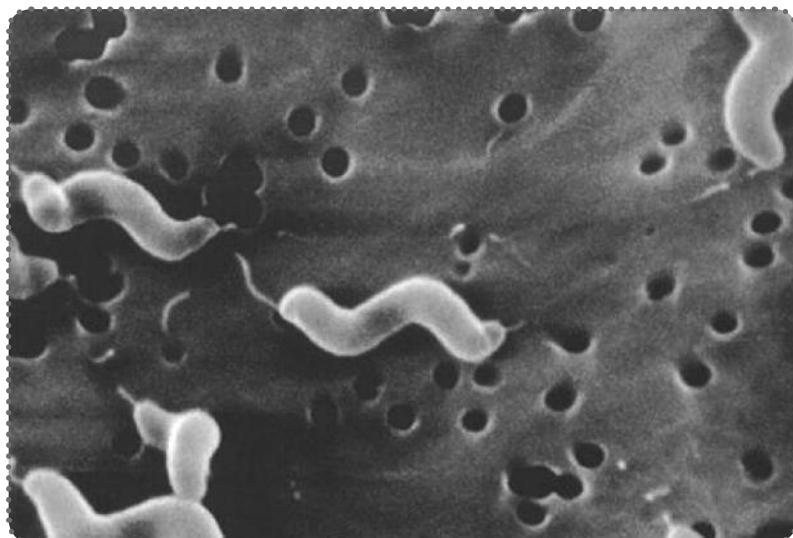
Rod Yersinia

Yersinia (jersinije) je rod gram negativnih, asporogenih, termolabilnih, psihrofilnih i enteropatogenih bakterija iz familije *Enterobacteriaceae*. Može da se nađe u namirnicima kojima se unosi u organizam ljudi i životinja. Najpoznatiji predstavnik je *Y. enterocolitica*, koja je toksogena jer stvara termostabilne i termolabilne toksine. Ovi toksini dovode do oboljenja ljudi i životinja, odnosno trovanja, koja se ispoljavaju gastro-intestinalnim smetnjama. Otporna je prema većem broju antibiotika i hemoterapeutika. Osjetljive su na polimiksin B.

Rod Campylobacter

Bakterije iz roda ***Campylobacter*** izazivaju akutni enteritis, pri kome se javlja dijareja, kao glavni simptom bolesti. Najpoznatiji predstavnici ovog roda su *C. jejuni* (slika 199) i *C. coli*. Nastanjuju digestivni trakt životinja i ljudi i iz organizma se izlučuju fesesom. Naročito ih često i dugo izlučuje oboljela živila, prvenstveno *C. jejuni*, dok *C. coli* češće izlučuju oboljele svinje. Bakterije iz ovog roda su izolo-

vane iz raznih namirnica, prije svega iz mesa živine i jaja. Na meso dospijevaju najčešće u toku obrade zaklane životinje, kada se ono kontaminira crijevnim sadržajem. Posljednjih godina kampilobakterioza se javlja sve češće. Tako se u SAD, na primjer, po broju oboljelih, kampilobakterioza nalazi ispred salmoneloze. Bakterije ovog roda takođe izazivaju toksoinfekcije. Inkubacija najčešće traje dva do pet dana, nakon čega se javljaju povišena tjelesna temperatura, bolovi u stomaku, grčevi i pro-liv. Stolice mogu biti i krvave, praćene mučninom i povraćanjem. Simptomi bolesti obično traju od tri do šest dana. Teža klinička slika može se javiti kod dojenčadi, male djece, starijih i odraslih osoba koje boluju od teških hroničnih bolesti zbog kojih im je oslabljen imunitet. Iako rijetko, moguća je pojava komplikacija, kao što su bakterijemija (prodor bakterija u krv) i hepatitis (upala jetre).



SLIKA 199 – *Campylobacter jejuni* (SEM)
(<https://emedicine.medscape.com/article/213720-overview>)

Rod Staphylococcus

Staphylococcus aureus stvara više od petnaest različitih ekstracelularnih proteina, od kojih su devet toksini. Stvara enzim koagulazu. Stafilokokna trovanja su uzrokovana unošenjem prethodno formiranog toksina u hrani, a poznato je 8 serološki različitih tipova (A, B, C, C1, C2, C3, D, E, F). Najčešće uključeni u trovanja hransom su toksin A i D, pojedinačno ili u kombinaciji. Za enterotoksin A vezano je oko 75% slučajeva trovanja prouzrokovanih stafilokokama. *S. aureus* najčešće dospijeva u hrani preko kontakta sa ljudima (radnici u proizvodnji ili osobe koje pripremaju hranu za konzum). Čovjek se smatra epidemiološki značajnim izvorom, jer je 25–50%

populacije zdravih ljudi nosilac ovog mikroorganizma na koži i sluzokoži. Toksin koji stvara *S. aureus* nazvan je enterotoksin jer djeluje na gastrointestinalni trakt. Termostabilan je. Da bi nastalo trovanje ovim enterotoksinom, mora se unijeti u organizam u dovoljnoj količini. Simptomi se javljaju obično poslije 3 časa od uzimanja hrane. Glavni simptomi trovanja su: mučnina, pojačana salivacija, grčevi u stomaku, hladan znoj, nesvjestica, malaksalost, povraćanje, proliv. Može nastati dehidratacija organizma. Stolica može biti krvava. Trovanja ovog tipa u većini slučajeva imaju povoljan ishod i do ozdravljenja dolazi obično za 1–3 dana. Pri temperaturi koja pogoduje razmnožavanju stafilocoka, ovi mikroorganizmi u hrani se razmnožavaju do broja $> 10^6$ cfu/g, koji će stvoriti dovoljnu količinu toksina za izazivanje oboljenja.

Rod Clostridium

Clostridium botulinum izaziva intoksikacije prvenstveno mesom, poznate kao botulizam. Nastaje kao posljedica ishrane mesom u kome se *C. botulinum* razmnožava i stvara toksine. Toksin koji stvara *C. botulinum* je egzotoksin, prilično otporan na enzime varenja u digestivnom traktu. Do danas predstavlja najjači poznati bakterijski otrov. Ova vrsta intoksikacija prvo je registrovana u Njemačkoj još u 18. vijeku i bila je izazvana kobasicama. Intoksikacije koje izaziva *C. botulinum* u velikom procentu se završavaju smrću. Otrov *C. botulinum* djeluje na centralni nervni sistem, onemogućavajući prenošenje impulsa duž nervnih vlakana. Toksin je veoma jak i već u koncentraciji od 10^{-10} g ubija miša. Postoji nekoliko imunoloških tipova *C. botulinuma*: A, B, C_a, C_b, D, E i F. Namirnice koje mogu izazvati trovanje toksinom *C. botulinum*, najčešće nisu organoleptički promijenjene. Trovanja botulinusnim toksinom najčešće nastaju konzumiranjem neadekvatno termički obrađenih konzervi. Ovo se objašnjava time što spore *C. botulinum* prezive termičku obradu i njihovim isklijavanjem dolazi do stvaranja toksina.

Clostridium perfringens je takođe uzročnik intoksikacija hranom. Dovodi do nadimanja konzervi i užeglog mirisa. Simptomi trovanja se javljaju 15–18 časova od uzimanja hrane. Javlja se slabost, nemoć, stomačni bolovi, proliv, poremećaj vida. Smrt obično nastaje uslijed paralize mišića grudnog koša koji regulišu disanje.

Clostridium perfringens je gram pozitivan, obligatno anaeroban, endosporogeni bacil (spore subterminalno postavljene), nepokretan. Za razliku od sojeva koji uzrokuju gasne gangrene, uzročnici trovanja hranom ne pokazuju hemolizu na agaru sa dodatkom konjske krvi. U zavisnosti od vrste egzotoksina koji stvaraju, postoji 5 vrsta *C. perfringens*, označenih sa A do E. Izvor *C. perfringensa* tip A, koji je najčešći uzročnik intoksikacija hranom, su zemlja, voda, prašina, a spore se mogu naći i u fecesu zdravih jedinki. Unijete hranom, vegetativne ćelije, koje prezive kiselost želudačnog soka prolaze u tanka crijeva, u kojima se razmnožavaju i sporulisu, produkujući enterotoksin. Toksin sintetišu sporulijuće ćelije, mada postoji mala

produkacija i kod vegetativnih. Toksin je komponenta omotača spora i oslobađa se tokom lize – razgradnje spora. Enterotoksin je protein, molekulske mase 35 kDa, ne pokazuje termorezistenciju i inaktivira ga temperatura od 60°C, za 10 minuta, kada se nalazi u slanom rastvoru. Najčešća hrana, uključena u intoksikacije izazvane *C. perfringensom*, je kuvano meso u većim komadima i mesne pite.

Rod *Escherichia*

Ovaj rod ima veliki značaj u higijeni životnih namirnica. U rod *Escherichia* spada samo jedna vrsta bakterija – *Escherichia coli*, koja posjeduje veći broj tipova i varijeteta. *E. coli* je aerobna i fakultativno anaerobna bakterija, koja proizvodi brojne enzime. Ona je truležni mikroorganizam. Ako se nađu u sredini sa bjelančevinama bogatim triptofanom, dolazi do njegovog razlaganja i obrazovanja indola. Proizvodi neke vitamine, kao što je vitamin B12. Vrlo je otporna i može mjesecima da živi u vodi, zemljištu i na površini mnogih predmeta. Vrlo dugo preživljava u raznim vrstama životnih namirnica, gdje se razmnožava. Propada na temperaturi od 60°C za 15 minuta. Ima vrlo složenu antigensku građu sastavljenu iz više antigena. Poznati su O, H i K antigeni. O antigen je somatski antigen, H antigen je u flagelama i K antigen – u omotaču bakterija. Za sada je kod *E. coli* utvrđeno 170 različitih somatskih, 56 flagelarna i 80 kapsularnih antigena. Na osnovu somatskih antigena *E. coli* se dijele u serološke grupe, a na osnovu flagelarnih antigena u serotipove (npr. *E. coli* O157:H7).

E. coli je dio normalne mikroflore digestivnog trakta životinja i ljudi. Međutim, neke *E. coli*, koje imaju specifične faktore virulencije – sposobnost kolonizacije i invazije epitelnih ćelija, produkcije enterotoksina, endotoksina i kolicina, mogu izazvati različita oboljenja – sepsu, meningitis novorodenčadi, zapaljenja urinarnog trakta, žučne kese, trbušne maramice, kao i zapaljenje crijeva koje se manifestuje prolivom (dijareja). Na osnovu faktora virulencije, patogene *E. coli* koje uzrokuju dijareju su podijeljene u nekoliko grupa: enteropatogene (EPEC), enterotoksogene (ETEC), enteroinvazivne (EIEC), enterohemoragične (EHEC), enteroagregativne (EAGEC) i difuzno adherentne (DAEC) *E. coli*.

Enteropatogene *E. coli* uzrokuju enteropatije kod ljudi i životinja, koje se manifestuju prolivom, a mogu da nastupe i septikemična stanja. Stvaraju termostabilni toksin. Važan faktor virulencije ovih *E. coli* su faktori adherencije K 88 i K 99, koji im omogućavaju kolonizaciju sluznice tankog crijeva. Zato se još nazivaju i enteroadherentne *E. coli*. Ovaj adhezivni aparat sastoji se od fimbrija, čiju sintezu kodiraju plazmidi.

Enterotoksogene *E. coli* stvaraju termostabilni i termolabilni enterotoksin. Posjeduju specifični faktor adherencije.

Enteroinvazivne *E. coli* prianjaju za sluznicu tankog crijeva i svojim toksinima je oštećuju, izazivajući zapaljenje sa pojmom erozija i ulceracija. One prodiru u epi-

telne ćelije debelog crijeva endocitozom, u njima se razmnožavaju i izazivaju smrt ćelija i ulceracije sluznice.

Enterohemoragične *E. coli* izazivaju krvavi proliv kod ljudi. Virulentni faktori enterohemoragičnih *E. coli* su citotoksin, verotoksin i „shiga-like“ toksin, sličan onom koji proizvode šigele. Naročito je značajna enterohemoragična *E. coli* O157:H7.

Enteroagregativne *E. coli* imaju sposobnost agregativne adherencije za epitelne ćelije domaćina, uslijed čega je sprječena apsorpcija tečnosti iz crijeva i javlja se dijareja.

Difuzno adherentne *E. coli* takođe uzrokuju proliv. Ove *E. coli* pokazuju difuznu adherenciju za HEp-2 ćelije (ćelije karcinoma grkljana čovjeka). Da bi *E. coli* mogle da dovedu do gastroenteritisa, odnosno zapaljenja želuca i crijeva, potrebno je da prodrnu u organizam u velikom broju. Zbog toga je higijena veoma značajan faktor za sprečavanje pojave oboljenja ovim mikroorganizmom.

Rod Listeria

Listeria monocytogenes

L. monocytogenes je gram pozitivna, fakultativno anaerobna štapićasta bakterija. Široko je rasprostranjena u prirodi i može se naći u zemljištu, vodi, biljnom materijalu, velikom broju ptica, sisara i ljudi. Od domaćih životinja, krave, ovce i koze su najčešće inficirane ovom bakterijom.

Smatra se da su ovce glavni rezervoar listerije u prirodi. *L. monocytogenes* je veoma značajan patogeni mikroorganizam, koji se može naći u hrani i prenosi putem hrane. Izaziva listeriju, oboljenje koje je zajedničko ljudima i životnjama (zoonozu). Stvara hemolizin – listeriolizin O (alfa listeriolizin), koji je odgovoran za njenu patogenost.

Zbog osobina koje posjeduje, prisustvo i razmnožavanje ovog mikroorganizma u hrani je vrlo teško kontrolisati. Razmnožava se u širokom opsegu temperature ($-1,5^{\circ}\text{C}$ do 50°C), preživjava temperaturu smrzavanja i relativno je rezistentna na visoke temperature. Preživjava u sredinama sa visokom koncentracijom natrijum hlorida (25,5%).

Pojava listerioze kod preživara je u visokoj korelaciji sa njihovom ishranom kontaminiranom silažom. Na preživljavanje listerije u silaži vrlo značajno utiče pH silaže. Ukoliko je pH silaže 5,0–6,0 i veći, stvaraju se povoljni uslovi za razmnožavanje listerije. Bolest se kod životinja manifestuje pobačajima, a uslijed zapaljenja mozga – dezorientacijom i kretanjem u krug. Inficirane životinje mogu izlučivati *L. monocytogenes* putem mlijeka, krvi i fecesa. Izolovana je iz mlijeka krava i koza koje nisu pokazivale simptome bolesti. Zato mlijeko i proizvodi od mlijeka, meso i proizvodi

od mesa predstavljaju konstantnu potencijalnu opasnost kao izvor infekcije ovim mikroorganizmom. Ova bakterija je izolovana i iz digestivnog trakta 5% ljudi koji nisu pokazivali simptome oboljenja. Kod odraslih ljudi, bolest se može javiti u dva oblika: invazivnom i neinvazivnom. Invazivni oblik se karakteriše simptomima, kao što su: meningitis, septikemija, endokarditis, konjuktivitis, groznicu, zamor, mučnina, grčevi, povraćanje, dijareja i dr. Oko polovina slučajeva oboljelih ljudi od listerije se završava smrću. Neinvazivni oblik se karakteriše febrilnim gastroenteritisom. Naročiti rizik od obolijevanja postoji za trudnice, novorođenčad, starije osobe i sve druge osobe sa oslabljenim imunitetom.

ALIMENTARNE MIKOTOKSIKOZE

Mikotoksini (*mykes* – grč. gljiva, *toxikon* – grč. otrov) su sekundarni metaboliti plijesni koji imaju toksično djelovanje na ljude, životinje, kao i na korisne mikroorganizme. Alimentarnim unošenjem (preko hrane) toksina pljesni u organizam životinja i ljudi nastaju intoksikacije, tzv. mikotoksikoze. Bolesti najčešće izazivaju sljedeći mikotoksini: aflatoksini, ohratoksin, zearalenon, trihoteceni, fumonizini, patulin. Najveći broj ovih mikotoksina stvaraju pljesni iz rodova *Aspergillus*, *Penicillium* i *Fusarium* (tabela 1.). Ove pljesni podjednako kontaminiraju žitarice (kukuruz, pšenica, ječam itd.) i voluminozna krmiva (sijeno, silaža, sjenaža). Mikotoksikoze mogu da dovedu do teških posljedica, u vidu direktnih gubitaka – uslijed uginuća životinja i indirektnih šteta – uslijed smanjenja proizvodnih i reproduktivnih sposobnosti domaćih životinja. Mikotoksini smanjuju mogućnost konzumiranja hrane, povećavaju konverziju, smanjuju prirast, drastično smanjuju količinu mlijeka, oštećuju imuni sistem, a samim tim povećavaju osjetljivost prema bolestima. Unosom kontaminirane hrane u digestivni trakt životinje, mikotoksini se izlučuju putem mlijeka, deponuju u mesu i jajima i tako postaju opasni u ishrani ljudi.

Akutne mikotoksikoze ljudi i životinja se mogu završiti letalno (smrtni ishod), a u hroničnim trovanjima, zavisno od vrste mikotoksina i njihovih ciljnih tkiva i organa, osnovna dejstva su:

- hepatotoksično (aflatoksini, fumonizini),
- nefrotoksično (citrinin, ohratoksin),
- kardiotoksično (penicilinska kiselina),
- neurotoksično (patulin),
- citotoksično (trihoteceni),
- estrogeno (zearalenon).

Kombinacije mikotoksina imaju jači biološki efekat nego pojedinačni mikotoksini.

TABELA 1 – Prikaz najčešće prisutnih mikotoksina u stočnoj hrani

Mikotoksin	Vrsta pljesni	Stočna hrana
AFLATOKSINI	<i>Aspergillus flavus,</i> <i>Aspergillus parasiticus</i>	Kukuruz, kikiriki, pamukovo sjeme, raž, ječam, mlijeko, meso
CITRININ	<i>Penicillium citrinum,</i> <i>Penicillium veridicatum</i>	Pšenica, ječam, kikiriki
OHRATOKSIN	<i>Penicillium ochraceus,</i> <i>Penicillium veridicatum,</i> <i>Penicillium cyclopium,</i> <i>Aspergillus ochraceus</i>	Pšenica, zob, pirinač, kikiriki
ZEARALENON	<i>Fusarium roseum,</i> <i>Fusarium moniliforme,</i> <i>Fusarium nivale,</i> <i>Fusarium oxysporum</i>	Kukuruz, šećerna trska, kikiriki, pšenica, zelene biljke
TRIHOTECENI	<i>Fusarium roseum,</i> <i>Fusarium graminearum,</i> <i>Fusarium tricinctum,</i> <i>Fusarium nivale</i>	Kukuruz, ječam, pšenica, zelene biljke
PATULIN	<i>Penicillium claviforme,</i> <i>Penicillium patulum</i>	Kukuruz, pasulj
FUMONIZINI	<i>Fusarium moniliforme,</i> <i>Fusarium proliferatum</i>	Kukuruz, mekinje
MONILIFORMIN	<i>Fusarium moniliforme</i>	Kukuruz
TREMORGENI	<i>Penicillium spp.,</i> <i>Aspergillus fumigatus,</i> <i>Aspergillus flavus,</i> <i>Aspergillus clavatus</i>	Silaža kukuruza

AFLATOKSINI

Aflatoksini su mikotoksini koje stvaraju pljesni *Aspergillus flavus* (slika 200) i *Aspergillus parasiticus*. Ove pljesni kontaminiraju stočnu hranu, u njoj se razmnožavaju i kao proizvod svog metabolizma stvaraju aflatoksine. Grupa aflatoksina sastoji se od aflatoksina B_1 , B_2 , G_1 i G_2 . Dodatno, putem mlijeka krava koje su konzumirale hranu kontaminiranu aflatoksinom B_1 , izlučuje se aflatoksin M_1 , hidroksimetabolit aflatoksina B_1 . Aflatoksin M_1 se može dokazati u mlijeku krava 12–24 časa od konzumiranja hrane koja sadrži visok nivo aflatoksina B_1 . Pljesni se naročito razmnožavaju u stočnoj hrani u oblastima sa toploim i vlažnim klimom. Toksini se mogu naročito naći u zrnavlju žita, kikirikijevoj i sojinoj sačmi, pirinču, suvom voću, zrnu kakaoa i dr. Do kontaminacije kukuruza pljesnima može doći prije berbe i za vrijeme skladištenja u silosima. Optimalni uslovi za razmnožavanje pljesni koje stvaraju aflatoksine su **vlažnost hrane 14–30% i temperatura od 25°C**. Ove pljesni se slabo razmnožavaju pri temperaturama nižim od 12°C i višim od 41°C. Aflatoksini mogu da se nađu i u mlijeku i drugim proizvodima od mlijeka. Maksimalno dozvoljena količina aflatoksina u mlijeku i proizvodima od mlijeka prema našim propisima je 0,05 µg/kg. Iako tokom procesa fermentacije dolazi do gubitka aflatoksina M_1 , njegove značajne količine su prisutne u siru i jogurtu. Aflatoksin se vezuje za kazein (protein mlijeka), pa je zbog toga koncentracija aflatoksina veća u siru nego u mlijeku od koga je proizveden. Približno 60% aflatoksina M_1 iz mlijeka prelazi u sirni gruš. Aflatoksin B_1 se najčešće može naći u hrani i ima najjače toksično dejstvo. Nakon resorpcije u digestivnom traktu, putem krvni dospijeva u jetru, gdje se i zadržava. U akutnim slučajevima dovodi do pojave **nekroze jetre, krvavljenja na unutrašnjim organima i smrti**. Smrtonosna (letalna) doza za životinje je 0,5–10 µg/kg tjelesne mase. Hronične intoksikacije se češće javljaju i uzrokuju **kancer jetre**. Pored kancerogenog, aflatoksin B_1 ima i jako **mutageno** (promjene na genima) i **teratogeno dejstvo** (nenormalan razvoj embriona) kod mnogih životinja, a potencijalno i kod ljudi. Osim što oštećuju jetru, aflatoksini mogu da uzrokuju i druge hronične poremećaje, kao što su slabljenje imuniteta i povećana osjetljivost na infekcije. Aflatoksini su termostabilni, tako da ih temperatura pasterizacije ne uništava. Utvrđeno je neznatno smanjenje aflatoksina M_1 u sterilizovanom mlijeku nakon dužeg skladištenja. Najbolji način sprečavanja pojave trovanja aflatoksinima je **stroga kontrola proizvodnje stočne hrane**, od usjeva (primjenom opštih pravila dobre poljoprivredne prakse), preko skladišta (kontrola vlage) do prodavnica.



SLIKA 200 – Kolonije *Aspergillus flavus*
(<http://fungi.myspecies.info/file-colorboxed/937>)

NESPECIFIČNI (FAKULTATIVNI) TROVAČI HRANE

Nespecifični trovači su bakterijske vrste koje **ne posjeduju specifičan toksin**, ali se otrovne materije stvaraju u sredini u kojoj se nalaze, kao posljedica njihove metaboličke aktivnosti. Ovoj grupi pripadaju prije svega **proteolitičke bakterije**. To su saprofitske bakterije. Razgradnjom proteina u hrani, ove bakterije dovode do stvaranja toksičnih međuprodukata – **biogenih amina** (histamin, tiramin i dr.), koji dovode do alimentarnog trovanja. Biogeni amini su termostabilni i kuvanjem se ne mogu učiniti neškodljivim. Histamin se najviše stvara u ribljem mesu, zbog većeg sadržaja histidina. Da bi dovele do trovanja, ove bakterije moraju da se razmnože u hrani u velikom broju, kako bi stvorile toliku količinu štetnih međuproizvoda koji će dovesti do trovanja. Bakterije koje pripadaju grupi nespecifičnih trovača hrane su: *Proteus spp.*, koliformne bakterije, *Clostridium bifermentans*, *Clostridium sporogenes*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus mycoides*, *Pseudomonas spp.*, *Enterococcus faecalis* i dr.

PITANJA

1. Šta su trovanja?
2. Šta su toksini?
3. Šta su alimentarne intoksikacije, a šta alimentarne toksikoinfekcije?
4. Koji se mikroorganizmi smatraju specifičnim, a koji nespecifičnim trovačima hrane?
5. Koji mikroorganizmi su specifični trovači hrane?
6. Koje bakterije su nespecifični trovači hrane?
7. Šta su mikotoksini, a šta mikotoksikoze?
8. Koje toksine proizvode plijesni iz rođova *Penicillium*, *Aspergillus* i *Fusarium*?
9. Koja dejstva mogu imati mikotoksini?
10. Koji toksini pripadaju grupi aflatoksina?
11. Koje su posljedice trovanja aflatoksinima?
12. Da li se aflatoksini uništavaju pasterizacijom?
13. Koja je dozvoljena doza aflatoksina u mlijeku i proizvodima od mlijeka prema našim propisima?
14. Koji je način sprečavanja pojave trovanja aflatoksinima?

OSNOVE ZARAZNIH BOLESTI

Zarazne bolesti su bolesti koje izazivaju mikroorganizmi. Zarazne bolesti izazivaju ne samo patogeni, već i fakultativno patogeni mikroorganizmi. Fakultativno patogeni mikroorganizmi pod određenim okolnostima i stanju makroorganizma postaju patogeni. Pod **infekcijom** se podrazumijeva razmnožavanje nekog patogenog mikroorganizma na mjestu njegovog prodora. Vrijeme koje prođe od prodora uzročnika u organizam do pojave prvih znakova bolesti naziva se **inkubacija**. Bolesti koje se prenose sa životinja na ljudе i obrnuto zovu se **zoonoze**. Za nastajanje jedne zaraze neophodno je prisustvo pet sljedećih faktora: izvor, putevi prenošenja, ulazna vrata, broj i virulencija uzročnika, prijemljivi organizam (zajedno se nazivaju Vogralikov lanac, epidemiološki lanac, slika 201).



SLIKA 201 – Vogralikov lanac

IZVOR ZARAZE

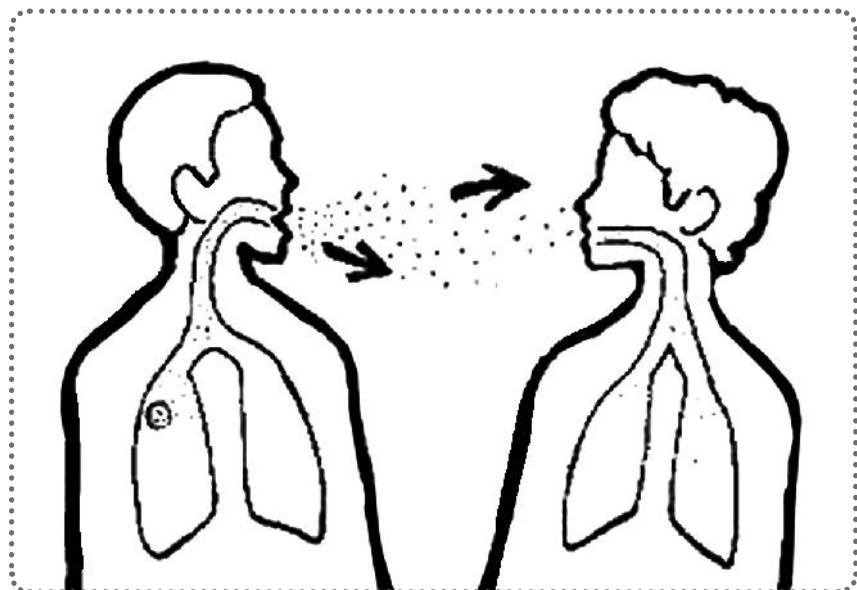
Mesta u kojima se nalaze patogeni mikroorganizmi prije nastanka zaraze nazivamo izvorima zaraze. Prema lokalizaciji uzročnika, postoje primarni, intermedijarni i sekundarni izvori zaraze.

Bolesna jedinka predstavlja *primarni izvor*, iz koga uzročnici bolesti dospijevaju u spoljnju sredinu i kontaminiraju tlo, predmete i dr. Ovako kontaminirana okolina predstavlja sekundarne izvore zaraze. Smatra se da sekreti bolesnih životinja ili kličonoša predstavljaju neku vrstu veze između primarnih i sekundarnih izvora, zbog čega ih nazivamo *intermedijskim izvorima*.

Sekundarni izvori zaraze su prostori, površine ili predmeti kontaminirani uzročnicima zaraznih bolesti. To su: zemlja, voda, vazduh, hrana, predmeti kontaminirani uzročnicima zaraznih bolesti, štale, mjesta za utovar i istovar životinja, pripusne stanice, sajamšta, inkubatorske stanice itd. Uloga sekundarnih izvora zaraze je izraženija kod onih zaraznih bolesti koje su izazvane mikroorganizmima otpornim na faktore spoljne sredine.

PUTEVI PRENOŠENJA ZARAZE

Pod putevima prenošenja zaraze podrazumijeva se način na koji se uzročnik neke zaraze prenosi od izvora zaraze do prijemljivog organizma. Ti putevi mogu biti: kontakt (direktni, indirektni, kohabitacija), placenta, hrana, voda, vazduh (slika 202), zemlja, artropode. Direktni kontakt (dodir) podrazumijeva prenošenje zaraze polnim putem, ugrizom ili preko promjena na koži. Indirektnim kontaktom zaraza se najčešće prenosi preko predmeta, životinja i čovjeka. Čovjek najčešće prenosi uzročnike kontaminiranom obućom i odjećom ili rukama. Hrana kontaminirana uzročnicima jedne zaraze (sekundarni izvor) često predstavlja i put prenošenja te zaraze.



**SLIKA 202 – Aerogena (kapljica) infekcija,
prenošenje mikroorganizama vazduhom**
(<http://gabrielescritoriobiologico.blogspot.com/2013/12/patogenos-1-parte.html>)

VRATA INFEKCIJE

Vrata infekcije predstavljaju mjesto, odnosno tkivo kroz koje mikroorganizmi prodire u makroorganizam. Vrata infekcije mogu biti: sluzokoža respiratornog, digestivnog, urogenitalnog trakta, konjuktive, povrijedena koža, placenta.

BROJ I VIRULENCIJA UZROČNIKA

Broj mikroorganizama koji prodire kroz ulazna vrata prijemljivog domaćina naziva se inokulum ili **infektivna doza** i ima veliki značaj u nastajanju infekcija. Na virulenciju mikroorganizama utiču faktori spoljašnje sredine i otpornost domaćina. Mijenjanje virulencije je reverzibilan proces. Virulencija se povećava ukoliko su uslovi spoljašnje sredine pogodni za njihov rast i razmnožavanje i obrnuto. Ukoliko se mikroorganizmi prenose s jednog na drugi osjetljivi organizam tokom serije pasaža, dolazi do povećanja virulencije, a do njenog slabljenja, ukoliko se mikroorganizmi prenose sa jednog na drugi otporni organizam.

PRIJEMLJIVOST ORGANIZMA

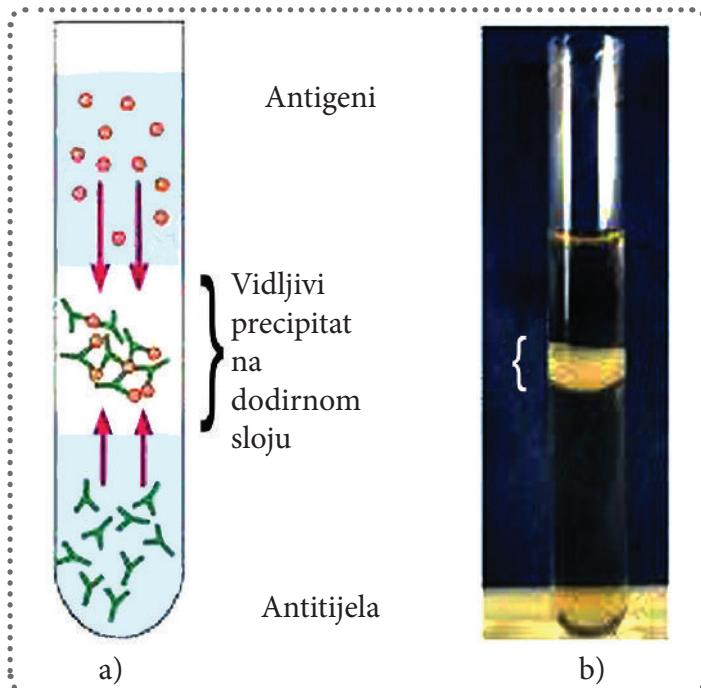
Prijemljivost predstavlja osjetljivost organizma na pojavu neke bolesti. Na prijemljivost utiče veliki broj faktora: vrsta, rasa, uzrast, pol, konstitucija, način držanja, ishrana, postojanje drugih oboljenja, oštećenja tkiva, transport, gustina naseljenosti na određenoj površini i dr.

SEROLOŠKE METODE U MIKROBIOLOŠKOJ DIJAGNOSTICI

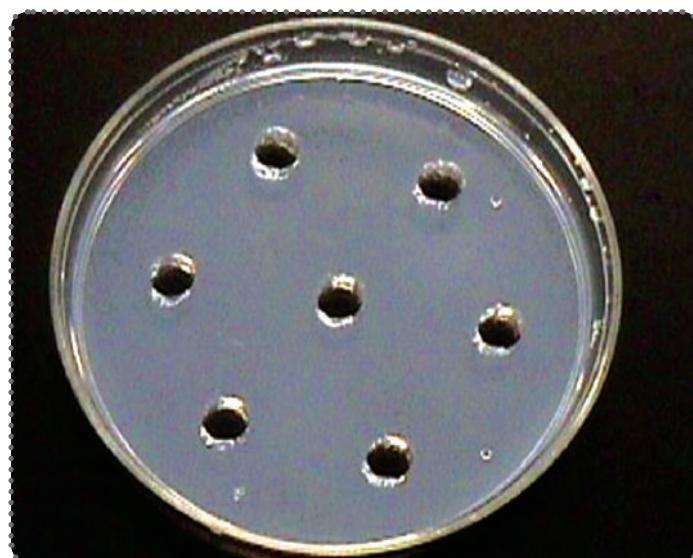
Pored klasičnih metoda izolacije i determinacije uzročnika bolesti, serološke (imuno-loške) metode se koriste kao dopunske ili alternativne. Imunološke metode zasnivaju se na specifičnosti vezivanja antitijela i antigena koji je indukovao sintezu antitijela u organizmu. To znači da se primjenom specifičnih antitijela može otkriti antigen odnosno da se primjenom određenog antiga mogu otkriti specifična antitijela u krvnom serumu životinja i ljudi. Imunološke (serološke) metode mogu biti direktnе i indirektnе. Direktnе metode su one koje pomoću poznatih specifičnih antitijela otkrivaju antigene uzročnika **direktно u materijalu**, a indirektnе – one koje pomoću poznatih specifičnih antigena otkrivaju **prisustvo specifičnih antitijela**. Veliki broj različitih seroloških metoda se primjenjuje u laboratorijskim ispitivanjima, od kojih su najznačajnije: precipitacija, aglutinacija, reakcija vezivanja komplementa (RVK), imuno-enzimski test (ELISA, *Enzyme linked immunosorbent assay*), test imunofluorescencije (IF) i dr.

Precipitacija

Precipitacija je reakcija između koloidno rastvorljivih antigena (precipitinogeni) i antitijela (precipitini), pri čemu nastaje kompleks koji se naziva **precipitat** (talog). Precipitacija može da se izvodi u epruveti ili na polučvrstim podlogama, uz dodatak agar. Kada je reakcija precipitacije pozitivna, u epruveti se uočava zamućenje na dodirnom sloju rastvora antigena i antitijela u vidu prstena (slika 203). Ova reakcija je našla naročitu primjenu kod dijagnostike antraksa (Askoli precipitacija). Prilikom reakcije precipitacije u gelu, antigen i antitijela difunduju u rastresiti gel i tako dolaze u kontakt. Na dodirnom sloju antigena i antitijela se formira precipitat u vidu luka (slika 204).



SLIKA 203 – Askoli precipitacija (bijeli prsten na dodirnom sloju)

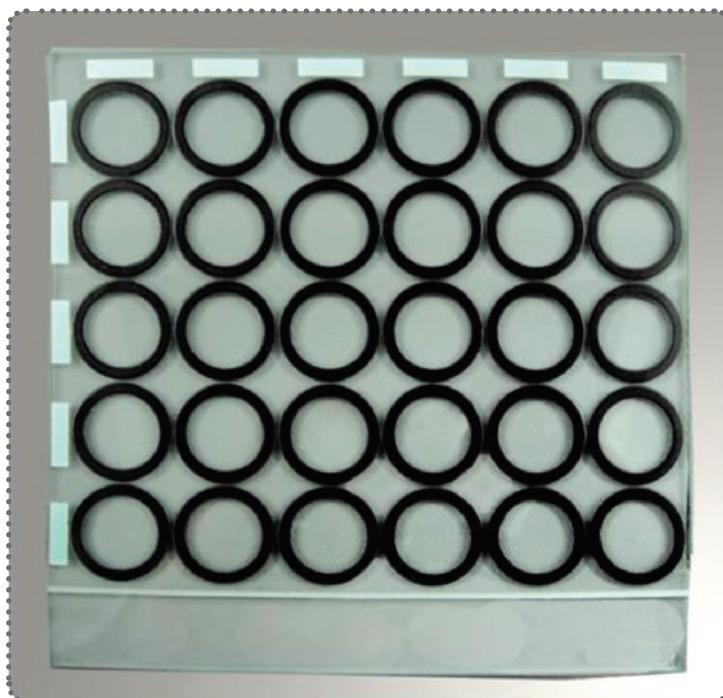


SLIKA 204 – Agar sa rupicama pripremljen za inokulaciju antiga i antitijela
[\(<http://www.apsnet.org/EDCENTER/K-12/TEACHERSGUIDE/ANTIGENANTIBODY/Pages/MaterialsandMethods.aspx>\)](http://www.apsnet.org/EDCENTER/K-12/TEACHERSGUIDE/ANTIGENANTIBODY/Pages/MaterialsandMethods.aspx)

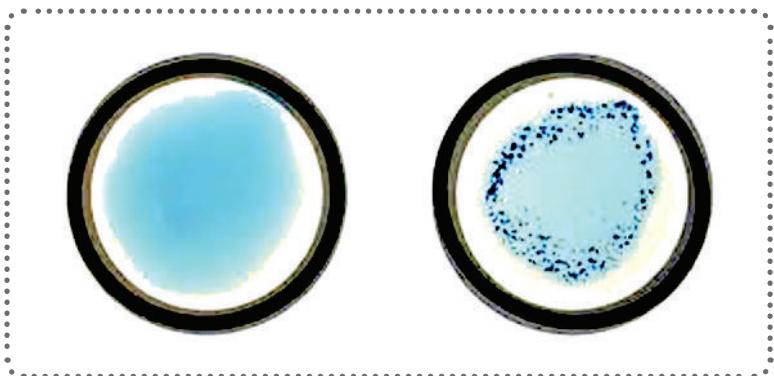
Aglutinacija

Aglutinacija je serološka reakcija u kojoj dolazi do stvaranja kompleksa (**aglutinata**) između antigena, koji je u vidu čestice veće molekulske mase (cijela bakterijska ćelija), i antitijela. Antitijela koja učestvuju u ovoj reakciji zovu se aglutinini, a antigeni – aglutinogeni. Reakcija aglutinacije može da se izvodi na pločici (slika 205) ili u epruveti.

Pri izvođenju aglutinacije na pločici, koja se zbog brzine izvođenja naziva i brza aglutinacija, stvoreni kompleksi antitijela i antigena u vidu pahuljica ili grudvica uočavaju se za nekoliko minuta (slika 206). Serološka reakcija aglutinacije se koristi npr. u dijagnostici bruceloze.



SLIKA 205 – Ploče za izvođenje aglutinacije
(<http://www.scientificdevice.com/agglutination>)

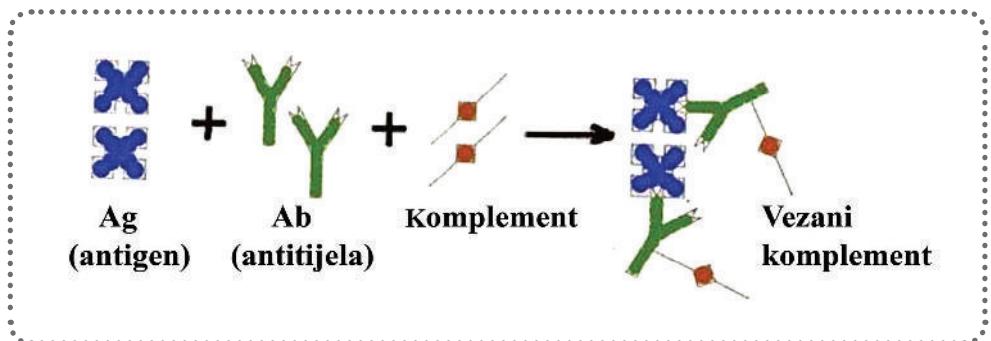


SLIKA 206 – Reakcija aglutinacije – pozitivna reakcija desno
(<http://academic.pgcc.edu/~kroberts/Lecture/Chapter%204/ID.html>)

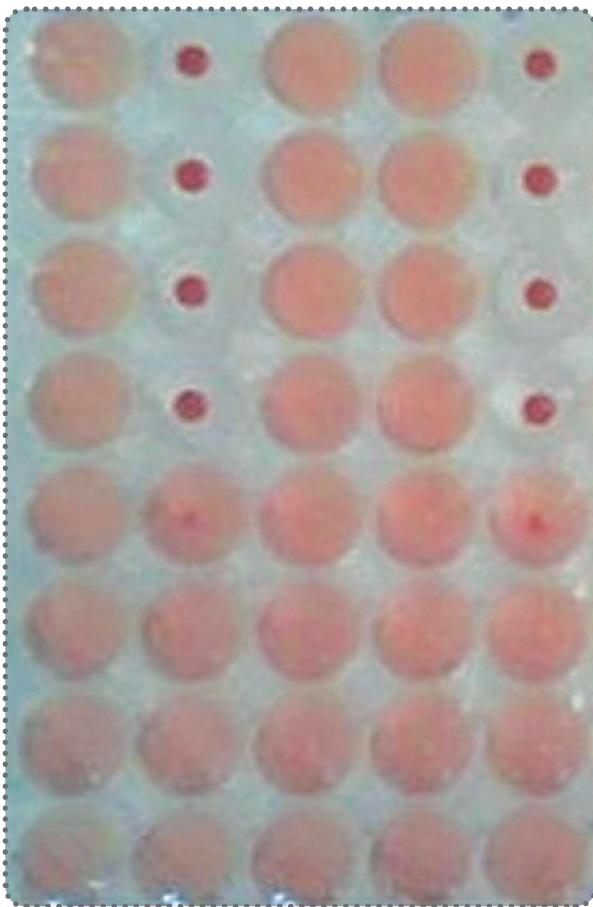
Reakcija vezivanja komplementa (RVK)

Antitijela, nakon vezivanja za antigene, ne uzrokuju uništavanje mikroorganizama. Kompleks antitijela i antigena aktivira sistem komplementa, koji se vezuje za antigen i dovodi do njegovog uništavanja (slika 207). Kao indikatorski sistem u reakciji vezivanja komplementa, koristi se hemolitični sistem koga čine eritrociti ovna i antitijela protiv ovčjih eritrocita. Do lize eritrocita dolazi ukoliko se ovom sistemu doda komplement. Komplement ima sposobnost da se nespecifično veže za bilo koji kompleks antigen – antitijelo.

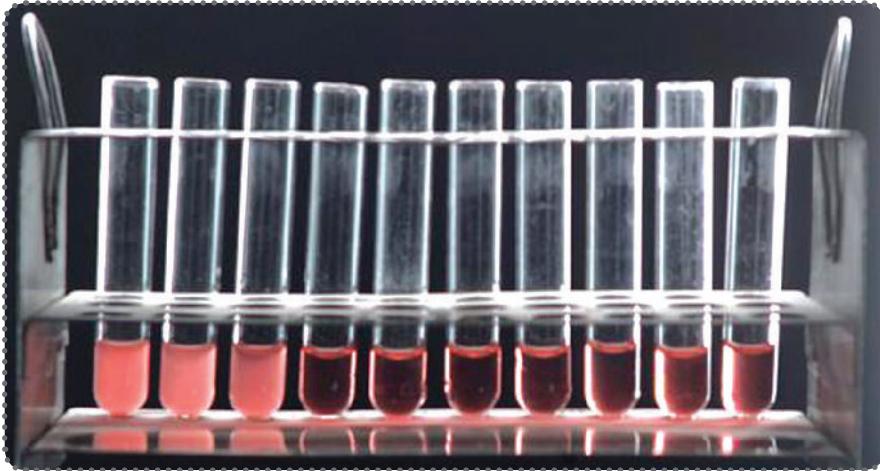
Pri ispitivanju određenog seruma na prisustvo antitijela na određeni mikroorganizam, serumu se dodaju antigen i komplement. Nakon toga se dodaje hemolitični indikatorski sistem i cijeli kompleks inkubira 30 minuta, na temperaturi od 37°C. Ukoliko su u ispitivanom serumu bila prisutna specifična antitijela, komplement se vezao za stvoreni kompleks antigen – antitijelo i zato ne dolazi do hemolize eritrocita. Ako u serumu nisu bila prisutna antitijela, komplement se vezuje za dodati indikatorski kompleks i dovešće do lize eritrocita. Prema tome, reakcija vezivanja komplementa je pozitivna **ukoliko nije došlo do hemolize** odnosno negativna, ukoliko je došlo do lize eritrocita (slike 208 i 209).



SLIKA 207 – Šematski prikaz vezivanja antigen – antitijelo kompleksa za komplement



SLIKA 208 – RVK na mikrotitarskoj ploči
sa bunarčićima: pozitivna reakcija – odsustvo hemolize, eritrociti istaloženi na dnu u vidu prstena; negativna reakcija – hemoliza eritrocita, ravnomjerno zamućenje
<https://news.mayocliniclabs.com/2016/08/23/aug-23>)

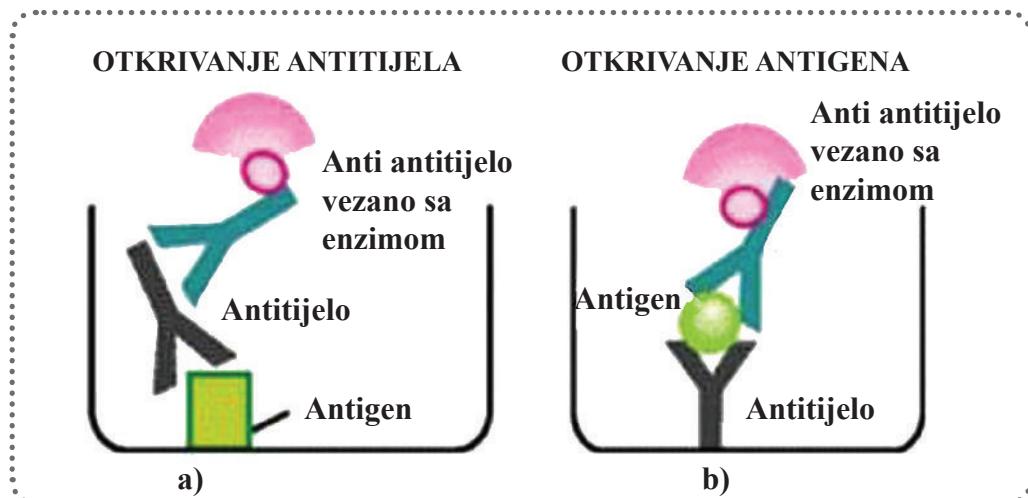


SLIKA 209 – RVK u epruveti: prva tri testa su pozitivna, a ostalih sedam su negativni (nema hemolize)

(http://intranet.tdmu.edu.ua/data/kafedra/internal/micbio/classes_stud/en/nurse/Bacchalour%20of%20Sciences%20in%20Nurses/ptn/Microbiology/2/14%20The%20usage%20of%20immunological%20reactions.htm)

Imunoenzimska metoda – ELISA

Serološka metoda ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay* – imunoenzimski test) se zasniva na primjeni poznatog antigena (slika 210a) ili poznatog antitijela (slika 210b).



SLIKA 210 – Imunoenzimska reakcija

Enzimi koji se najčešće koriste su: peroksidaza, alkalna fosfataza i beta galaktozidaza. Ukoliko dođe do formiranja kompleksa antigen – antitijelo obilježenog enzimom, nakon dodavanja supstrata, koga razlaže dati enzim, nastaje razlaganje supstrata i **stvara se obojeno jedinjenje**. Precizno očitavanje reakcije obavlja se pomoću spektrofotometra, mada se i golim okom može uočiti razlika u boji između pozitivnih i negativnih uzoraka (slika 211). Imunoenzimska metoda (ELISA) se izvodi u mikrotitracionim (mikrotatarskim) pločama sa udubljenjima – bunarčićima.



SLIKA 211 – ELISA procesor sa spektrofotometrom

(http://toxics.usgs.gov/photo_gallery/photos/pesticides/AnalyticalMethods/AM_ELISA_Supplies_lg.jpg)

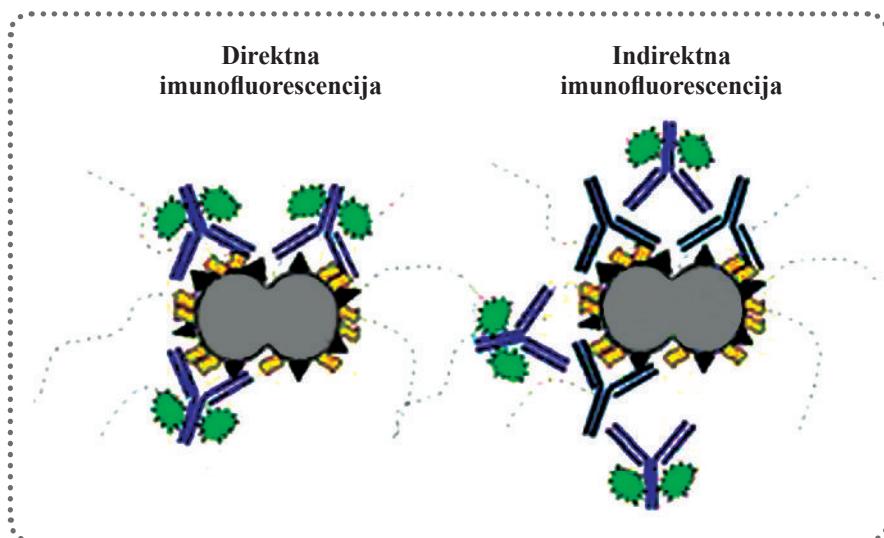
Metode imunofluorescencije

Metoda imunofluorescencije zasnovana je na korišćenju antitijela obilježenih fluorescentnim bojama (fluorescein, auramin, rodamin i druge), koje imaju osobinu da nakon osvjetljivanja ultraljubičastim zracima mogu da emituju svjetlost druge talasne dužine. Nakon specifičnog vezivanja antitijela konjugovanih fluorohromima za odgovarajuće antigene, stvaraju se stabilni kompleksi koji se mogu otkriti fluorescentnim mikroskopom. Pod fluorescentnim mikroskopom, koji kao izvor svjetlosti koristi ultraljubičaste zrake, antigeni obilježeni konjugovanim antitijelima jasno fluorescira na tamnoj pozadini. Sama boja fluorescencije zavisi od vrste fluorescentne boje koja je konjugovana za antitijela, a kod boje koja se najčešće koristi – fluorescein.

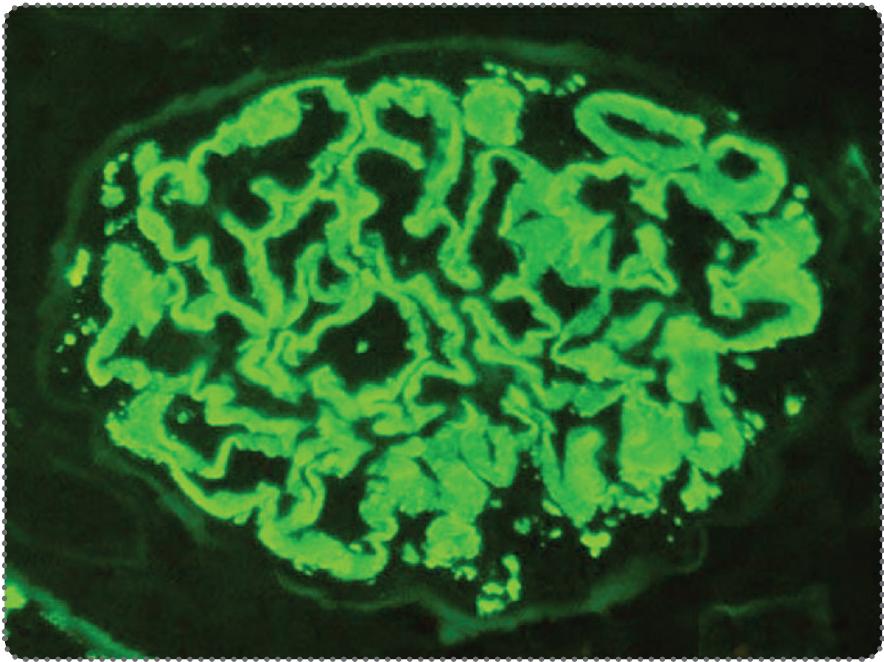
izotiocijanata (FITC), fluorescencija je zelena (slika 213). Postoji direktna i indirektna metoda imunofluorescencije.

Direktna metoda se izvodi sa konjugovanim antitijelima specifičnim za određeni antigen mikroorganizma (slika 212). Na preparate tkiva ili razmaza se, poslije fiksiranja, dodaje obilježeni antiserum i inkubira radi formiranja kompleksa. Poslije ispiranja, kojim se sa preparata uklanjaju nevezana antitijela konjugovana fluorohromima, pristupa se mikroskopskom pregledu.

Metoda **indirektne imunofluorescencije** se izvodi u dvije faze. U prvoj fazi, na gotov preparat sa određenim antigenom dodaje se serum sa specifičnim antitijelima, a zatim se preparat inkubira. Poslije inkubiranja preparat se ispira i u drugoj fazi se dodaje hiperimuni serum koji sadrži anti antitijela obilježena fluorohromom (slika 212).



SLIKA 212 – Direktna i indirektna imunofluorescencija



SLIKA 213 – Pozitivna direktna imunofluorescencija
(http://www.kidneypathology.com/English_version/Case_64.html)

Tako dobijeni preparat se ponovo inkubira, zatim ispira i nakon toga pregleda primjenom fluorescentnog mikroskopa (slika 213). Prednost indirektne imunofluorescencije u odnosu na direktnu, je **u jačoj fluorescenciji**, koja je posljedica mogućnosti vezivanja većeg broja antitijela za svaki pojedinačni molekul neobilježenog antitijela, a koji je specifično vezan za prisutni antigen na preparatu.

EPIZOOTOLOGIJA (EPIDEMIOLOGIJA)

Epizootiologija (u humanoj medicini – epidemiologija) je nauka koja proučava činioce koji uzrokuju učestalost i rasprostranjenost bolesti.

Najčešće jedna zarazna bolest zahvata veliki broj prijemljivih životinja na farmi, jednom ili većem broju okolnih mjesta. Taj vid rasprostranjenosti zarazne bolesti nazivamo **enzootijom** (endemijom). Kada zaraza zahvata još veće područje, prostranstvo čak cijele zemlje, naziva se **epizootijom** (epidemijom), a kada prelazi granice države, pa i kontinenta – **panzootijom** (pandemijom). Zarazne bolesti se rijetko javljaju sporadično – pojedinačno. Po dužini trajanja, zarazne bolesti mogu biti **akutne** (5–10 dana), **perakutne** (kraće od 5 dana), **subakutne** (kada traju duže od akutnog

toka) i **hronične** (kada traju mjesecima i godinama). Iako su hronične bolesti dugotrajne, one su vrlo često teška oboljenja (tuberkuloza, brucelzoza, sakagija, tifus peradi), koja se često ne ispoljavaju znacima tipičnim za to oboljenje.

Kontrola infektivnih – zaraznih bolesti, kao i smanjenje mogućnosti da se bolest pojavi postižu se: povećanjem odbrambenih mehanizama domaćina (aktivnom i pasivnom imunizacijom), ograničavanjem izvora infekcije, strogom kontrolom načina širenja infekcije (prečišćavanje vode, sterilizacija vazduha, uništavanje insekata, izolovanje oboljelih životinja i ljudi, mikrobiološka kontrola prehrambenih proizvoda itd.).

PREMUNICIJA

Ukoliko životinja preboli akutni period u kome se zaraza ispoljava sa svim svojim specifičnim znacima, u njenom organizmu se stvara izvjesna količina antitijela, koja nisu u stanju da unište uzročnike – antigene, ali sa njima stvaraju izvjesnu ravnotežu. Stanje organizma kada u njemu istovremeno postoje i uzročnici – antigeni i specifična antitijela naziva se **premunicija**. Zahvaljujući toj okolnosti, za dokazivanje hroničnih bolesti primjenjuje se reakcija antigen – antitijelo.

PITANJA

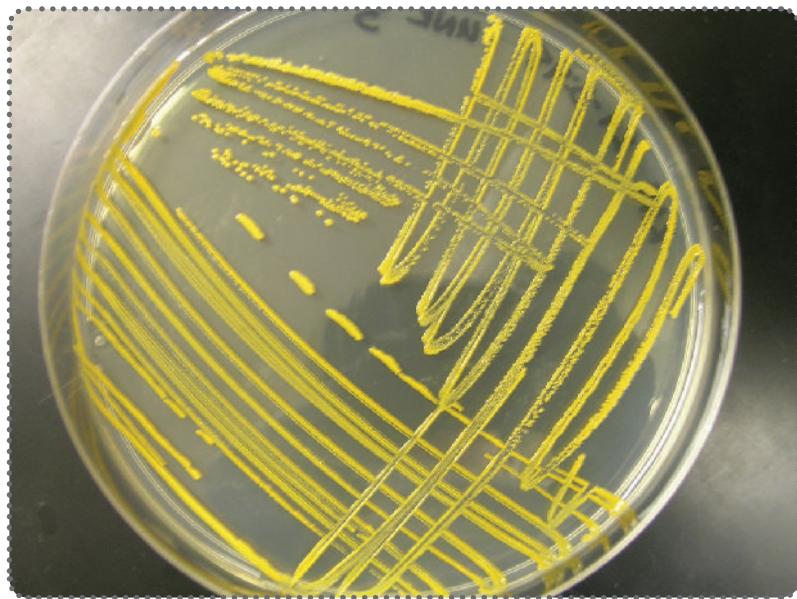
1. Šta su zarazne bolesti?
2. Šta su zoonoze?
3. Šta je infekcija?
4. Šta je inkubacija?
5. Koji su faktori neophodni za nastanak zarazne bolesti?
6. Koji izvori zaraze postoje i objasni ih?
7. Koji su putevi prenošenja zarazne bolesti?
8. Koja vrata infekcije mogu biti?
9. Šta se podrazumijeva pod prijemljivošću nekog organizma?
10. Koje su najznačajnije serološke metode dijagnostike zaraznih bolesti?
11. Šta je epidemiologija – epizootiologija?
12. Šta su: enzootija, epizootija i panzootija?
13. Kakve mogu biti zarazne bolesti prema intenzitetu reakcije organizma i dužini trajanja?
14. Šta je premunicija?

BAKTERIJE – UZROČNICI ZARAZNIH BOLESTI ŽIVOTINJA

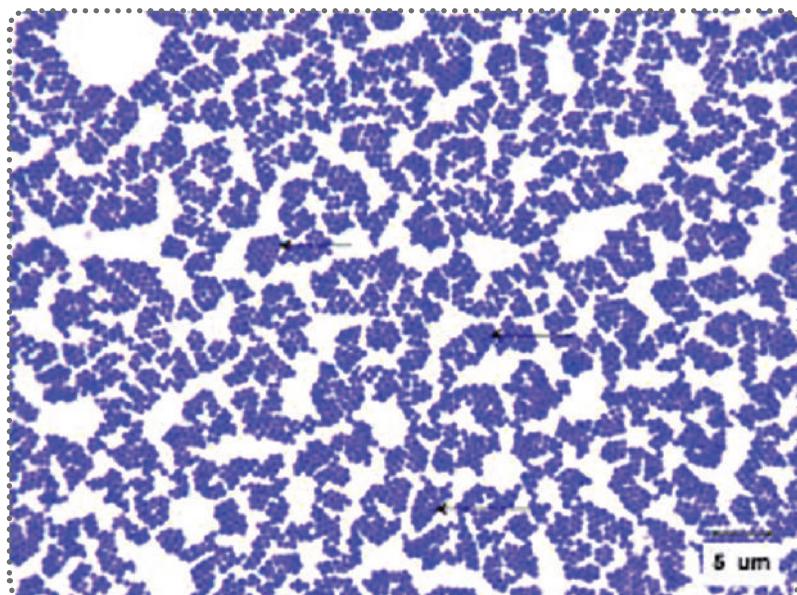
Familija Staphylococcaceae

Rod Staphylococcus

Stafilokoke se nalaze na koži i sluzokoži ljudi i životinja. Mogu da budu patogene, kada dovode do gnojnih procesa. Dovode do gnojnog zapaljenja vimena (mastitis ovaca i goveda). Kada se nađu u hrani, neki patogeni sojevi proizvode jak entero-toksin koji kod ljudi dovodi do alimentarnih intoksikacija. Stafilokoke su doble ime od grčke riječi *staphylos*, što znači grozd i *coccus*, što znači zrno. To su okrugle ne-pokretne bakterije. Kapsule rijetko stvaraju. Boje se gram pozitivno. U preparatima iz kultura sa čvrstih podloga, stafilokoke se vide u gustim, brojnim skupinama koje podsjećaju na grozdove. Stafilokoke na čvrstim podlogama obrazuju okrugle, ispupčene kolonije glatkih ivica, veličine 1–3 mm. Stafilokoke su aerobne i fakultativno anaerobne bakterije. Razmnožavaju se na temperaturi od 15 do 37°C, a optimalna temperatura za razmnožavanje stafilokoka je 32°C. Proizvode tri vrste pigmenta: bijeli, žuti i zlatnožuti. Stvaraju enzim katalazu. Većina sojeva razlaže manitol i smatra se da je to osobina patogenih sojeva. Mogu da izdrže visoke temperature. Temperatura od 60°C uništava ih tek za 1 sat. Neke vrste mogu da izdrže temperaturu od 80°C. Prema sušenju su otporne. Osušene u prašini ili nekoj drugoj organskoj materiji, mogu da ostanu duže vrijeme vitalne. Vrlo su otporne prema visokoj koncentraciji NaCl. Široko su tolerantne prema pH sredine u kojoj se razmnožavaju. Mogu da se razmnožavaju u sredini sa pH od 4,8 do 9,4. Stvaraju složene toksine, kao što su: hemolizin (alfa, beta, delta i gama hemolizin), letalni toksin, leukocidin, dermonekrotoksin i enzime, kao što su: koagulaza, hijaluronidaza, fibrinolizin, proteaza, lipaza, fosfataza, želatinaza. Najznačajnije patogene vrste stafilokoka su: *Staphylococcus aureus* (slike 214 i 215), *Staphylococcus intermedius* i *Staphylococcus hyicus*. Sve tri vrste su koagulaza pozitivne. Patogene mogu biti i neke koagulaza negativne stafilokoke, kao što su *Staphylococcus epidermidis* i *Staphylococcus saprophyticus*.



SLIKA 214 – Kolonije *S. aureus* na hranljivom agaru
(<https://www.flickr.com/photos/93752018@N00/2512551856>)

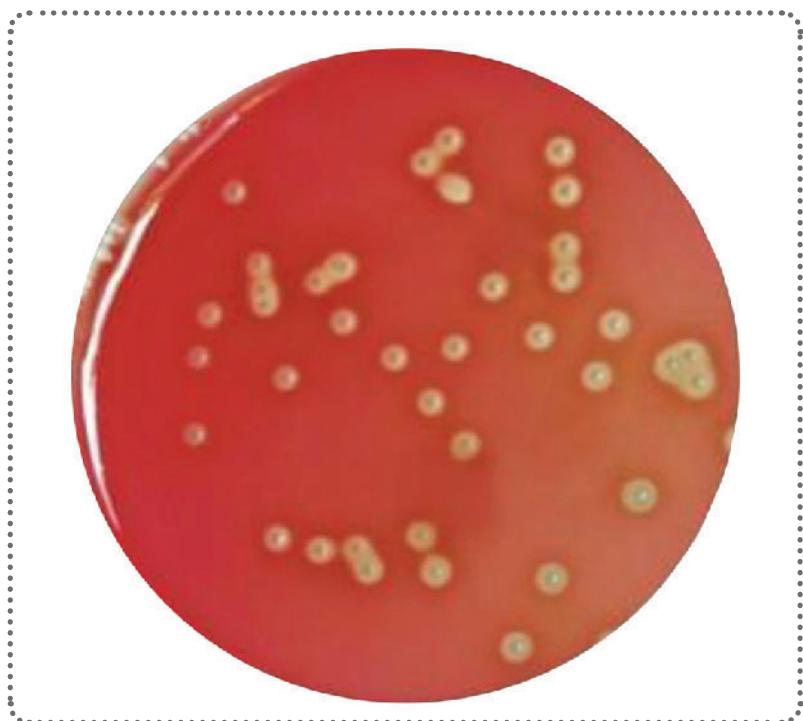


SLIKA 215 – *S. aureus*, bojenje po Gramu, 1000x
(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470553/figure/article-22388.image.fl1>)

Familija Streptococaceae

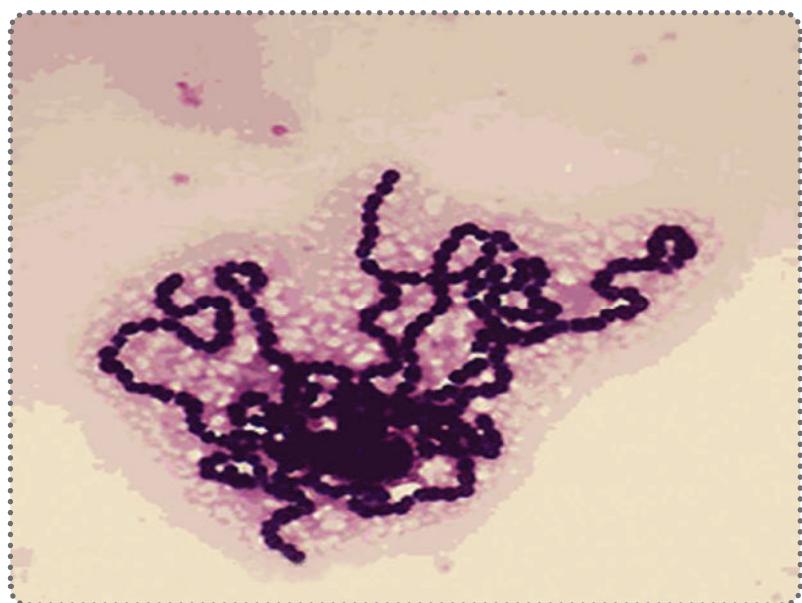
Rod Streptococcus

Streptokoke se nalaze na koži, sluzokoži ljudi i životinja, u životnim namirnicama. U prirodi žive saprofitskim načinom života, ali u određenim uslovima mogu da izazovu oboljenja. Mogu da izazovu gnojna zapaljenja na koži i sluzokoži, kao i u parenhimatoznim organima ljudi i životinja. Mnogi sojevi streptokoka nisu patogeni, a neki od njih se koriste u industriji mlijeka – za proizvodnju proizvoda od mlijeka. Okruglog su ili ovalnog oblika, raspoređene u vidu kraćih ili dužih lanaca. Po Gramu se boje gram pozitivno. Nisu pokretne. Spore ne stvaraju. Neke vrste streptokoka imaju kapsulu. Dobro se razmnožavaju na hranljivim podlogama, naročito ako se podlogama doda krv, krvni serum ili 1% glukoza. Optimalna temperatura za rast streptokoka je 36–37°C. Slabo su otporne prema spoljašnjim faktorima. Povišena temperatura od 55°C ih uništava. To su aerobni i fakultativno anaerobni mikroorganizmi. Kolonije su sitne, okrugle, pravilnih ivica, sjajne ili lako zamucene. Na krvnoj podlozi mogu da stvaraju potpunu ili nepotpunu hemolizu krvi (slika 216).



SLIKA 216 – Kolonije *S. agalactiae* na krvnom agaru – sa zonom hemolize
(<http://www.himedialabs.com/intl/en/products/Dairy/Pathogen-Detection-Lactic-Streptococci/Edwards-Medium-Base-Modified-M748>)

Proizvode više toksina, kao što su: streptolizin (hemolizin), leukocidin, eritrogeni toksin i više enzima, kao što su: streptokinaza (fibrinolizin), hijaluronidaza, streptodornaza (dezoksiribonukleaza). Najznačajnije patogene vrste streptokoka su: *Streptococcus pyogenes* (uzročnik šarlaха kod ljudi), *Streptococcus zooepidermicus* (izaziva gnojna zapaljenja kod životinja), *Streptococcus equi* (uzročnik adenitisa – zapaljenja limfnih čvorova ždrebadi i mладих konja), *Streptococcus agalactiae* (uzročnik zaraznog presušenja – zapaljenja vimena krava, slike 216 i 217), *Streptococcus pneumoniae* (uzročnik respiratornih oboljenja ljudi i životinja), *Streptococcus dysgalactiae* (uzročnik mastitisa).



SLIKA 217 – *S. agalactiae* – bojenje po Gramu, 1000x
(<https://microbiologiaudca.webnode.es/news/streptococcus-agalactiae>)

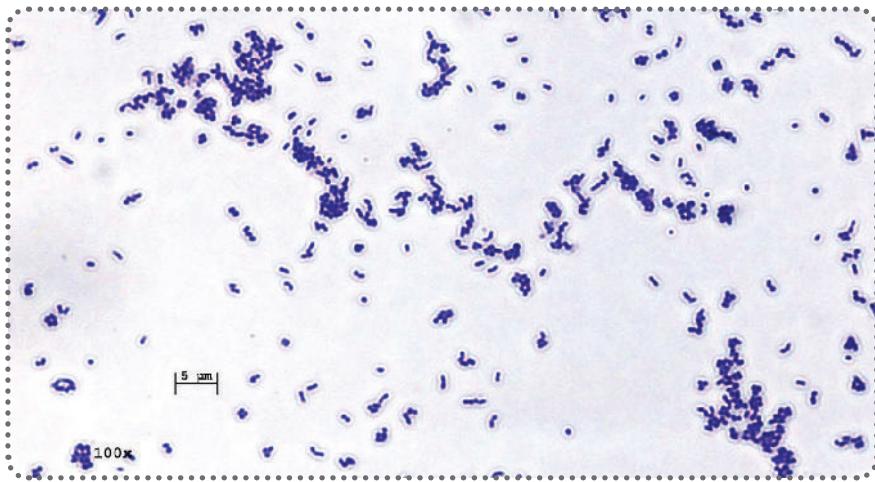
Familija Corynebacteriaceae

Rod Corynebacterium

Ove bakterije po svom obliku podsjećaju na malj, zbog čega su dobile ime korineformne bakterije. Imaju oblik pravilnih ili malo savijenih štapića, koji su zadebljali na jednom ili oba kraja. Po Gramu se boje pozitivno. Bojenjem po Neisseru, u njihovoj protoplazmi se uočavaju granule, tamnije obojene. Mogu se naći pojedinačne ili u skupinama, u vidu palisada. Obično su nepokretne. Aerobi su i fakultativni anaerobi. Optimalna temperatura za rast patogenih vrsta je 37°C. U patološkom sasušenom materijalu mogu duže vrijeme da opstanu. Osjetljive su prema dezinficijensima. Neke patogene vrste stvaraju egzotoksine. Izazivaju apscese kod konja, ovaca, svinja i teladi. Najznačajnije vrste su: *Trueperella pyogenes* (raniji nazivi *Corynebacterium pyogenes* i *Arcanobacterium pyogenes*) – dovodi do pojave apscesa kod životinja, pneumonije, mastitisa i artritisa kod svinja, ovaca i teladi, kao i do gnojnih umbikalnih infekcija (infekcije pupka) novorođenih životinja (slike 218 i 219).



**SLIKA 218 –Kolonije *Arcanobacterium pyogenes* na krvnom agaru,
zona hemolize**
(Bojanić – Rašović)



SLIKA 219 – *Arcanobacterium pyogenes*, bojenje po Gramu 1000x
(http://people.upei.ca/jlewis/A-pyogenes-100XB_copy.jpg)

Corynebacterium pseudotuberculosis (izaziva pseudotuberkulozu ovaca i ulcerozni limfangitis – zapaljenje limfnih sudova konja), *Corynebacterium renale* (izaziva pielonefritis goveda (lat. *pielonephritis* – zapaljenje bubrega), *Corynebacterium equi* (izolovan je iz oboljelih pluća ždrebadi), *Corynebacterium bovis* (nalazi se kao sa-profit u mlijeku, a može da izazove mastitis krava (zapaljenje mlijecne žljezde).

Familija Actinomycetaceae

Rod Actinomyces

Ove bakterije se karakterišu obrazovanjem dugih niti, koje kod nekih vrsta mogu da obrazuju micelijum. Niti mogu da budu kraće ili duže. Filamentozni oblici se obično raspadaju, obrazujući kokoidne ili difteroidne oblike bakterija. Po Gramu se boje pozitivno. Razmnožavaju se u anaerobnim uslovima.

Actinomyces bovis

Izaziva aktinomikozu kod životinja i ljudi (lokalna ili sistemska bolest sa stvaranjem karakterističnih granuloma u koži, subkutanom tkivu i unutrašnjim organima). Vrlo je otporan mikroorganizam. Dosta je raširen u prirodi, na biljkama, u zemljištu i vodi. Kod životinja se nalazi na sluzokoži usta, nosa, jednjaka, u želucu i na koži.

Actinomyces israelii (izaziva aktinomikozu kod ljudi)

Actinomyces suis (izaziva aktinomikozu svinja i mastitis u krmača)

Familija Mycobacteriaceae

Rod Mycobacterium

Mikobakterije imaju oblik štapića. Mogu da budu pravilnog ili nepravilnog oblika, malo povijeni. Javljuju se u vidu končastih tvorevina, koje se raspadaju obrazujući štapiće ili kokoidne oblike. Pripadaju acido–alkoholerezistentnim bakterijama. Nakon bojenja karbol fuksinom ne mogu se odbojiti alkoholom ili kisjelim alkoholom (5–10% rastvor HCl u 96% etanolu). Po Gramu se teško boje. Neke vrste mikobakterija se mogu obojiti gram pozitivno. Striktni su aerobi. Optimalna temperatura za razmnožavanje se kreće od 30 do 40°C. Sporo se razmnožavaju, kod nekih vrsta vidljive kolonije se uočavaju nakon 2 dana do 8 nedjelja. Postoje saprofitske i patogene vrste bakterija ovog roda.

Patogene vrste su podijeljene u dvije grupe: patogene vrste za toplokrvne organizme (domaće životinje i čovjek) i patogene vrste za hladnokrvne životinje.

Najznačajnije vrste patogene za toplokrvne životinje su:

- *Mycobacterium tuberculosis* – uzrokuje tuberkulozu ljudi,
- *Mycobacterium bovis* – uzrokuje tuberkulozu goveda,
- *Mycobacterium avium* – uzrokuje tuberkulozu ptica,
- *Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis* – uzrokuje paratuberku-lozu kod životinja,
- *Mycobacterium leprae* – uzrokuje lepru (gubu) kod ljudi,
- *Mycobacterium scrofulaceum* – uzrokuje kožne ulceracije i plućne infekcije kod ljudi i životinja.

Najznačajnija vrsta patogena za hladnokrvne životinje (ribe) je *Mycobacterium marinum*.

Mycobacterium tuberculosis

Mycobacterium tuberculosis (slika 220) je vrlo otporan prema raznim fizičkim i hemijskim faktorima spoljašnje sredine. Sunčeva svjetlost ih uništava u sluzi pluća goveda za 30–40 dana, u izmetu goveda na pašnjacima preživi 13 dana. U sputumu koji se nalazi u tamnom prostoru mogu da prežive oko 120 dana. Ustajala voda za piće može da bude zarazna do 18 dana. Direktna sunčeva svjetlost uništava ih za 5 časova. U kisjelom mlijeku može da preživi tri nedjelje, a u bijelom siru od 3 do 28 nedjelja. Na stranicama knjiga ostaju vitalni oko 3 mjeseca. Kuvanjem se uništava za 5–15 minuta. U mlijeku se uništava za 20 minuta temperaturom od 59°C. Za dezinfekciju se koriste fenol i rastvor sublimata. Uništava ih 5% rastvor karbolne kiseline

i 3% rastvor formalina. Hlor i hlorni preparati nemaju skoro nikakvog djelovanja na uzročnike tuberkuloze. Infekcija nastaje različitim putevima: aerogeno, alimentarno, omfalogeno, rjeđe intrauterino, intramamarno i kutano. Tuberkulozu odlikuje formiranje čvorova poznatih kao tuberkuli. Proces može da zahvati sva tkiva, ali su promjene najčešće u limfnim čvorovima, plućima, crijevima, jetri, slezini, pleuri i peritoneumu. Imunitet kod ljudi danas se stiče vakcinacijom BSG vakcinom, koja je pripremljena od živih atenuiranih bakterija uzročnika tuberkuloze.



**SLIKA 220 – Kolonije *M. tuberculosis* na podlozi po Levenštajnu
(Löwenstein Jensen medium)**

(<https://www.topsimages.com/images/mycobacterium-tuberculosis-colony-morphology-47.html>)

Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis je uzročnik paratuberkuloze, John-ove (Jonove) bolesti. Jonova bolest je hronična, infektivna, neizlječiva bolest, koja se karakteriše povremenim do stalnim prolivom i postepenim gubitkom tjelesne mase. Uglavnom je oboljenje goveda, mada se pojavljuje i kod ovaca i koza, jelena i divljih papkara. U zahvaćenim zapatima ugine 2–10% odraslih goveda.

Familija Listeriaceae

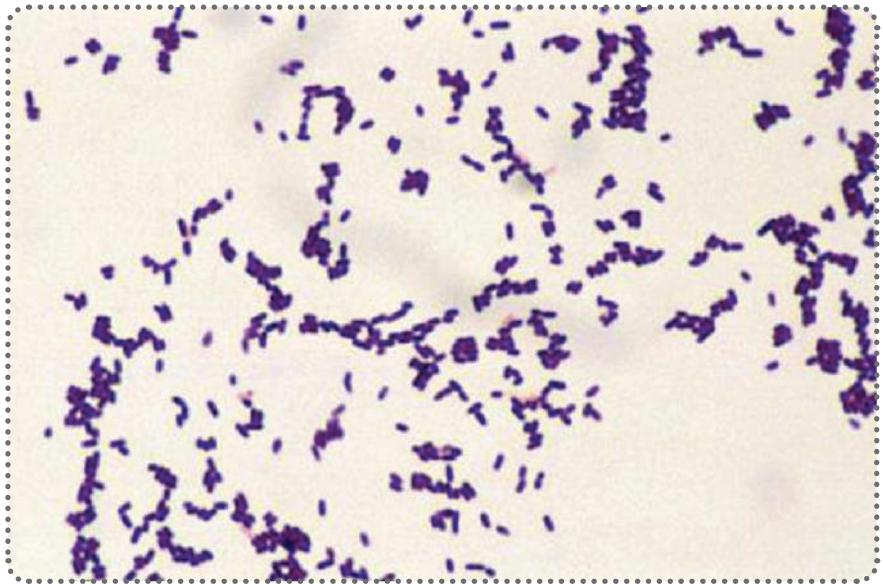
Rod Listeria

Rod *Listeria* obuhvata male, kokoidne, pleomorfne štapiće. Ne stvaraju spore i capsule, pokretne su. Odlikuju se karakterističnim rasporedom štapića koji obrazuju parove u obliku slova V ili Y ili kraćih lanaca. Po Gramu se boje pozitivno, u starijim kulturama mogu biti i gram varijabilni. Pokretne su i posjeduju veći broj flagela. Razmnožavaju se pri temperaturi između 20 i 37°C ili se mogu razmnožavati i pri nižim temperaturama. Katalaza su pozitivne. Aerobne su, a mogu se razmnožavati i u mikroaerofilnim uslovima, uz dodatak CO₂. Otporne su prema mnogim spoljnim faktorima. Uspješno se razmnožavaju i na 4°C. Temperatura pasterizacije ih sporo ubija. Zahvaljujući svojoj otpornosti, listerije u prirodi mogu dugo da prežive u zemljji, prašini, fekalijama. Prirodni rezervoari su svi divlji glodari, miševi, pacovi i poljski zec. U prirodnim uslovima zaraza se prenosi pobačenim plodovima, placentom, urinom, mlijekom, iscjetkom iz polnih organa. Osjetljive su prema dezinfekcionim sredstvima i većini antibiotika. Najznačajnija patogena vrsta je *Listeria monocytogenes* (slike 221 i 222).



SLIKA 221 – Kolonije *L. monocytogenes*

(http://fundacionio.org/img/bacteriology/cont/Listeria_monocytogenes.html)



SLIKA 222 – *L. monocytogenes*, bojenje po Gramu, 1000x
(<http://veterina.info/vesti/25-goveda/bolesti-goveda/184-listerioze-opirnije>)

Listeria monocytogenes stvara hemolizin. Dovodi do oboljenja kod ljudi i životinja (krava, konja, svinja, ovaca, srna, lisica, činčila, poljskog zeca, zamorca, miša, fazana i pilića). Manifestuje se nervnim simptomima izazvanim gnojnim zapaljenjem mozga i kičmene moždine (*encephalomyelitis purulenta*), abortusom, zapaljenjem mlijecne žljezde (mastitisom) i dr. Klicnoše su glodari, ali i druge vrste životinja. Pretežno obolje trudnice i djeca.

Familija Erysipelothrichaceae

Rod Erysipelothrix

Ovom rodu pripadaju gram pozitivne, štapićaste do filamentozne bakterije. Ne stvaraju spore ni kapsule. Nisu pokretni. U starijim kulturama se javljaju morfološki izmijenjeni oblici, involutivne forme koje pokazuju sklonost ka gram negativnom bojenju. Najznačajniji predstavnik ovog roda je *Erysipelothrix rhusiopathiae* (*Erysipelothrix insidiosa*).

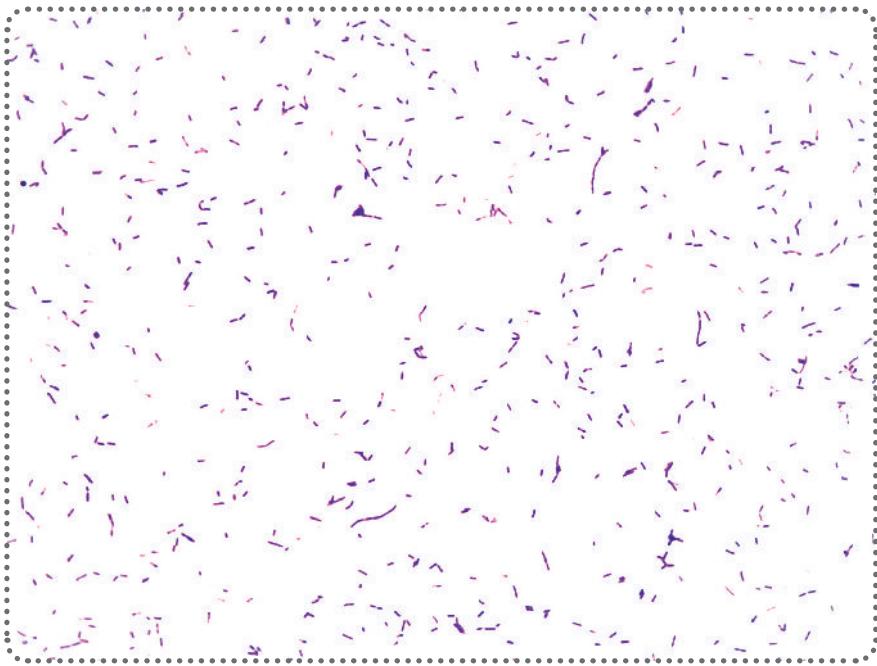
***Erysipelothrix rhusiopathiae* (*Erysipelothrix insidiosa*)**

Erysipelothrix rhusiopathiae izaziva oboljenja kod raznih vrsta životinja, kao što su: crveni vjetar svinja, poliartritis i hemolitični enteritis kod ovaca i jagnjadi, zapaljenje pupka, pneumonija, pleuritis i perikarditis jagnjadi, dermatitis i endokarditis goveda, enteritis ždrebadi i konja, akutno septikemično oboljenje ptica, čuraka i fazana. Često se nalazi na koži slatkovodnih riba. Crveni vjetar svinja treba razlikovati od sličnog oboljenja kod ljudi koje se takođe naziva crveni vjetar, a izaziva ga *Streptococcus pyogenes*. Međutim, uzročnik je patogen i za čovjeka. Uzročnik preko sitnih lezija na koži prodire u organizam i dovodi do lokalnih infekcija, koje se rijetko šire dalje po organizmu. Može da se lokalizuje u zglobove gdje izaziva poliartritis. Može da dovede i do septikemije i endokarditisa. Razmnožava se dobro na običnim hranljivim podlogama, naročito sa dodatkom krvi, seruma ili glukoze. Na čvrstim podlogama nakon 24 časa na 37°C raste u obliku okruglih, sitnih, glatkih kolonija, prozirnih kao kapi rose (slika 223). Kolonije su veličine oko 0,1 mm u prečniku. Gram pozitivan je štapić (slika 224). Mikroaerofilan je, ali se uspješno razmnožava i u aerobnim i anaerobnim uslovima. Otporan je na dejstvo faktora spoljašnje sredine, pa je zato veoma rasprostranjen u prirodi. U vodi, zemljištu, leševima, stajskom đubretu može mjesecima da preživi. Naročito je otporan prema sušenju i raznim konzervansima koji se koriste u prehrambenoj industriji, kao što su postupak dimljenja, soljenja i kisijeljenja. Prema antibioticima je osjetljiv. Na njega dobro djeluju penicilin, eritromicin i dr. Crveni vjetar svinja, vrbanac, je zarazna bolest mlađih svinja. Karakteriše se crvenilom kože, zapaljenjem želuca i crijeva, otokom slezine, uginućem. Pored septikemičnog toka, može da se manifestuje i u hroničnom – sa simptomima artritisa, verukoznog endokarditisa i nekroze kože.



SLIKA 223 – Kolonije *E. rhusiopathiae* na krvnom agaru

(http://fundacionio.org/img/bacteriology/cont/Erysipelothrix_rhushipatiae.html)



SLIKA 224 – *E. rhusiopathiae*, bojenje po Gramu, 1000x
(http://fundacionio.org/img/bacteriology/img/E_rhusiopathiae_04.JPG)

Familija Bacillaceae

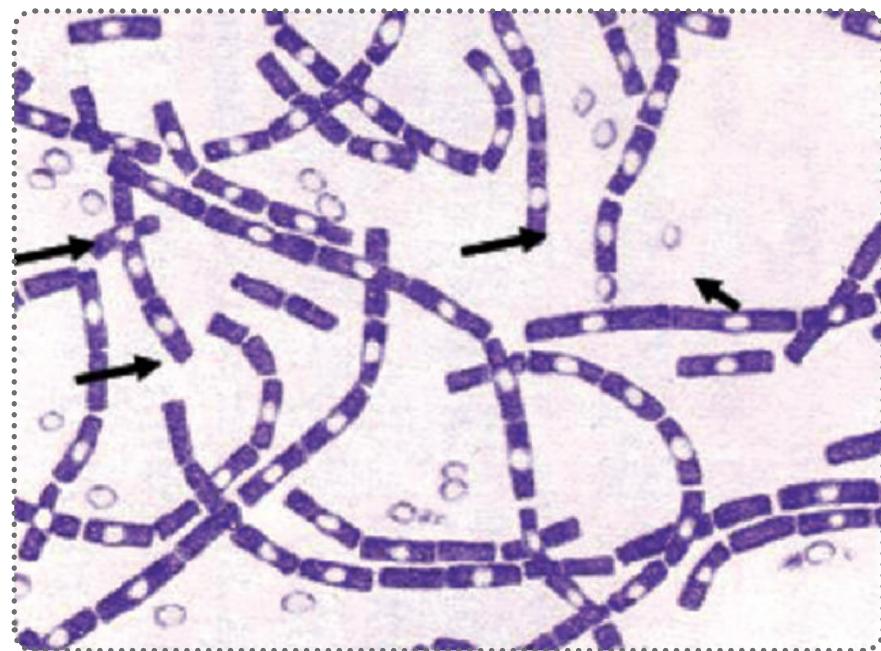
Rod Bacillus

Bakterije roda *Bacillus* su aerobne, gram pozitivne, sporulirajuće štapićaste bakterije. Nalaze se rasprostranjene u raznim sredinama, kao što su vazduh, voda, zemljište, fekalije, ljudska i stočna hrana. Samo neke vrste, kao što je *Bacillus anthracis*, izražito su patogene. Imaju izražene fermentativne aktivnosti i utiču na procese truljenja u prirodi. Spore stvaraju u prisustvu kiseonika. Izgled spora je okruglog ili elipsoidnog oblika. Spore su u odnosu na tijelo bakterija postavljene centralno ili subterminalno. Veličina spora ne prelazi veličinu bakterijskog tijela, tako da ne mijenja oblik bakterija. Samo neke vrste, kao što je *Bacillus anthracis*, stvaraju kapsule. Kapsule se uočavaju kod vegetativnih oblika bakterija u patološkom materijalu ili u kulturama koje su gajene na podlozi sa dodatkom krvi. Većina vrsta roda *Bacillus* su pokretni, izuzetak je *Bacillus anthracis* koji je nepokretan. Razmnožavaju se u aerobnim i fakultativno anaerobnim uslovima. *B. cereus* i *B. anthracis* za razmnožavanje zahtijevaju striktну aerobnu sredinu. Katalaza i oksidaza su pozitivne. Otporne su na razne spoljašnje faktore. Vegetativni oblici su manje otporni od spora. Spore *B. anthracis*

kuvanjem propadaju za 10 minuta. Spore su otporne prema многим dezinfekcionim sredstvima. Sublimat u razrjeđenju 1:1000 uništava spore za 70 časova, a 4% rastvor kalijum permanganata za 15 minuta. U osušenom stanju mogu da ostanu vitalne preko 60 godina. Većina bakterija iz ove grupe je osjetljiva prema antibioticima.

Bacillus anthracis

B. anthracis (slike 225 i 226) izaziva crni prišt, akutnu zaraznu bolest koja se kod domaćih životinja najčešće javlja kao septikemija, praćena visokom temperaturom, otokom slezine i krvarenjima u subkutanom i subseroznom tkivu. Prijemljive su sve vrste domaćih životinja i čovjek. Izvori infekcije su zemljište, životinje i ljudi. Toksini *B. anthracis* ubrzavaju prodiranje uzročnika, slabeći fagocitozu. Toksin oštećuje mnoge organe i sisteme, uslijed čega dolazi i do prestanka disanja. Krv uginule životinje je bez kiseonika i tamne boje. Najosjetljiviji su preživari, a manje osjetljive su svinje. Životinje se najčešće zaraze posredno ili neposredno sporama uzročnika koje se nalaze u zaraženom zemljištu. Ljudi se inficiraju ukoliko dođu u direktni ili indirektni kontakt sa oboljelom životinjom, njihovim sirovinama, proizvodima od takvih životinja ili leševima. U zatvorenim leševima vegetativni oblici antraksa ne prelaze u spore, jer nema kiseonika, već poslije 3–4 dana uginu.



SLIKA 225 – *Bacillus anthracis*, vegetativni oblici i spore,

bojenje po Gramu (1500x)

(<http://textbookofbacteriology.net/Anthrax.html>)



SLIKA 226 – Kolonije *Bacillus anthracis* na krvnom agaru
(<http://fundacionio.org/img/bacteriology/cont/Bacillus%20anthracis.html>)

***Paenibacillus larvae* (White 1906) (raniji naziv *Bacillus larvae*)**

Uzročnik je kuge pčelinjeg legla (truleži pčelinjeg legla). Odrasle pčele su otporne prema ovoj bolesti. Pčelinje larve su vrlo osjetljive, uginjavaju, a leglo dobija smeđu, prljavu boju, ljepljive konzistencije, koje u početku sadrži veliki broj vegetativnih oblika, a kasnije sadrži spore. Po Gramu se boji gram varijabilno. Razmnožava se u aerobnim uslovima. Za razliku od vegetativnih oblika, spore su vrlo otporne prema običnim dezinficijensima. Uzročnik je osjetljiv na sulfonamide i antibiotike.

Bacillus alvei

Rasprostranjen je u prirodi. Nalazimo ga u zemlji. Izolovan je iz larvi pčela koje boluju od blage truleži pčelinjeg legla.

Familija Clostridiaceae

Rod Clostridium

Rod *Clostridium* obuhvata anaerobne, gram pozitivne, štapićaste, sporogene bakterije. Nalaze se raširene u prirodi, u zemljištu, vodi i materiji životinjskog ili biljnog porijekla koja se raspada. Imaju značajnu ulogu u procesu kruženja azota, ugljenika, sumpora i fosfora. Većina bakterija iz roda *Clostridium* su saprofiti. Samo su neke vrste, koje imaju jake egzotoksine, kao što su *Clostridium perfringens*, *C. septicum*, *C. novyi*, *C. histolyticum*, *C. tetani*, *C. botulinum*, *C. chauvoei*, patogene. Izazivaju gasne edeme, koji predstavljaju skup bolesti: maligni edem, šuštvac i gasna flegma. One se karakterišu stvaranjem edema u mišićnom i vezivnom tkivu, uz stvaranje mjeđurića sa gasom. Sve bakterije iz roda *Clostridium* stvaraju spore. Spore su ovalne, subterminalne ili centralne, veće od bakterijskog tijela. Kako je spora veća od bakterijskog tijela, ona deformiše štapić u vidu vretena, maljice za doboš ili u vidu limuna. Zbog izgleda štapića u vidu vretena (*closter* – vreteno), cio rod je dobio ime *Clostridium*. Skoro sve bakterije ovog roda posjeduju veći broj flagela peritrihno raspoređenih po tijelu bakterije. Izuzetak su *Clostridium perfringens* i *Clostridium butyricum*, koji nemaju flagele i nisu pokretni. Osim *Clostridium perfringens*, ostale vrste ne posjeduju kapsulu. Za razliku od spora koje su vrlo otporne, vegetativni oblici bakterija iz roda *Clostridium* su slabo otporni. Spore pojedinih vrsta mogu i do 20 godina preživjeti u spoljnoj sredini. Antagenska građa klostridija sastavljena je iz O-somatskih, H-flagelarnih i K-kapsularnih antigena.

Clostridium septicum

Nalazi se u zemlji i đubrištu. Infekcija nastaje unošenjem uzročnika preko rana ili putem hrane, preko oštećene sluzokože jednjaka, želuca i crijeva, kao posljedica raznih zapaljivih stanja. Kod ovaca izaziva oboljenje poznato pod imenom Bradot. Najosjetljiviji su konji, ovce i goveda, a manje svinje, psi i mačke.

Clostridium novyi

Kao i svi uzročnici iz roda *Clostridium*, nalazi se u digestivnom traktu domaćih životinja, odakle dospijeva u spoljnu sredinu. Kod ljudi prouzrokuje infekciju rana u vidu toksičnog edema, kod ovaca tzv. crnu bolest, kod bivola osteomijelitis.

Clostridium chauvoei

Nalazi se u zemljištu. Izaziva šuštavac goveda i ovaca.

Clostridium perfringens

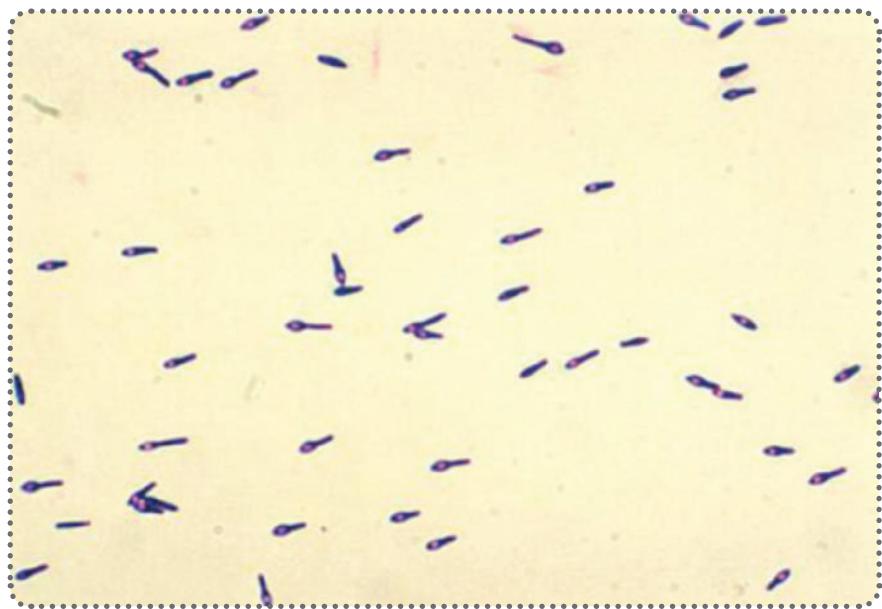
Postoji nekoliko tipova ovog mikroorganizma (A, B, C, D, E, F). Može da izazove gasnu gangrenu (gasnu flegmonu) kod ljudi, enteritis, peritonitis, proliv. Može dovesti do trovanja hranom, jer stvara vrlo jak enterotoksin. Gasna flegmona kod životinja se javlja kao dizenterija jagnjadi i enterotoksemija ovaca. Slično oboljenje može da se javi kod konja.

Clostridium botulinum

C. botulinum stvara botulinusni toksin, koji kada se putem hrane unese u organizam ljudi i životinja dovodi do pojave botulizma. *Clostridium botulinum* se nalazi u zemlji, na biljkama, u digestivnom traktu životinja. Razmnožava se u zemljištu. U crijevima ljudi i životinja se ne razmnožava. Toksin se stvara u spoljnoj sredini, gdje se razmnožavaju uzročnici. Kod životinja trovanje nastaje obično unošenjem silirane hrane, koja sadrži toksin. Prilikom siliranja, uzročnik u silose može da dospije na više načina – preko zemlje, biljaka, a najprije preko leševa glodara. Leš koji sadrži spore *C. botulinum* kontaminira siliranu hranu, u kojoj se nagomilava toksin. Do trovanja ljudi dolazi unošenjem životnih namirnica, suvog mesa, kobasicu, sira, nedovoljno sterilisanih konzervi. Toksin koji stvara *C. botulinum* je jedan od najjačih bakterijskih toksina. Botulinusni toksin je čist protein. Jedan miligram toksina sadrži oko 20 letalnih doza za miša. Toksin se luči za vrijeme logaritamske faze rasta bakterije i na kraju ostaje vezan za bakterije. Temperatura od 80°C za 30 minuta uništava toksin. Po svom afinitetu toksin je neurotropan. Dovodi do smrti usljed paralize muškulature organa za disanje.

Clostridium tetani

Rasprostranjen je u zemljištu. U crijevima konja, goveda, a često kod pasa i ljudi uzročnik se nalazi u obliku spora, odakle preko izmeta dospijeva u spoljašnju sredinu i zemljište. Obrazuje terminalne spore, koje bacilu daju izgled čiode i odgovaraju plektridijum tipu spora (slika 227).



SLIKA 227 – *Clostridium tetani*, bojenje po Gramu, 1000x

(<http://www.ppdictionary.com/bacteria/gpbac/botulinum.htm>)

Proizvodi dva egzotoksina: tetanolizin, koji hemolizuje eritrocite i tetanospazmin, koji izaziva tetanične grčeve. Toksin unešen oralnim putem nema efekta, zbog djelovanja hlorovodonične kiseline u želucu, koja ga razara. Unijet parenteralno, djeluje toksično i spada u red najjačih bakterijskih toksina. Tetanus je posljedica anaerobne infekcije rana sporama *C. tetani*. Jedini uslov je nizak redoks potencijal u tkivu kontaminiranim sporama, što je moguće kod povreda, posebno kod miješanih infekcija sa aerobnim bakterijama i mehanički izazvane hemostaze. Prestanak dotoka krvi u tkivo dovodi do stvaranja anaerobnih uslova, što pogoduje razmnožavanju klostridijskih spora. Spore *C. tetani* iskljavaju u vegetativne oblike i proizvode lokalno velike količine tetanospazmina. Na toksin *C. tetani* najviše su osjetljivi kopitarji, manje bivoli, goveda, ovce, svinje i koze, a izuzetno psi i mačke. Domaća perad vrlo rijetko oboli od tetanusa. Mlade životinje su osjetljivije od starijih. Kod mladih životinja najčešća je umbilikalna infekcija (infekcija pupka). Osjetljiv je i čovjek.

Familija Enterobacteriaceae

Ovoj familiji pripadaju sljedeći rodovi: *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Edwardsiella*, *Erwinia*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Yersinia* i dr. Zbog lokalizacije u digestivnom traktu, najviše u debelom crijevu ljudi i životinja, imaju zajedničko ime crijevne bakterije. Štapićaste su i boje se gram negativno. Spore ne stvaraju. Većina bakterija posjeduje flagele peritriho raspoređene. Neke vrste stvaraju dobro izražene kapsule. Veoma su raširene u prirodi. Iz debelog crijeva, preko fekalija i urina, dospijevaju u spoljnu sredinu. Neke su vrlo patogene, a druge uslovno patogene bakterije. Većina saprofitskih bakterija učestvuje u procesima truljenja, koji se odigravaju u prirodi. Osim u crijevima ljudi i životinja, mogu se naći u urogenitalnom traktu, žučnim putevima i u respiratornim organima, gdje mogu dovesti do oboljenja. S obzirom na veliku raširenost u prirodi, na sluzokoži i u crijevima ljudi i životinja, ove bakterije veoma lako dospijevaju u životne namirnice, mlijeko, meso, jaja i druge proizvode za ljudsku i stočnu hranu. Nalaz ovih bakterija u vodi i životnim namirnicama ukazuje na fekalno zagađenje. Fermentativne osobine kod većine enterobakterija su dobro izražene. Fermentišu znatan broj ugljenih hidrata, uz pojavu kiseline i gasa. Sve enterobakterije se na osnovu aktivnosti prema laktazi dijele na laktaza pozitivne i laktaza negativne vrste.

Rod Escherichia

E. coli je normalni stanovnik tankog i debelog crijeva ljudi i životinja. Iz crijeva može da prodre u druge organe, gdje dovodi do zapaljivih procesa. Do prodora *E. coli* u druge organe dolazi uslijed slabljenja imuniteta – otpornosti organizma, izazvanog djelovanjem različitih unutrašnjih i spoljašnjih faktora. Zbog toga je *E. coli* uslovno patogeni mikroorganizam. Koli infekcije se najčešće javljaju kod mlađih životinja. *E. coli* može da bude uzročnik mastitisa kod krava, pri čemu je sekret mlijecne žlijezde žute boje, vodenast, sa krpicama, a često i krvav – hemoragičan. Takođe može da dovede do septikemije, urogenitalnih infekcija itd.

Rod Salmonella

Bakterije roda *Salmonella* se nalaze dosta raširene u prirodi. Borave kao saprofiti u digestivnom kanalu ljudi i životinja. Preko fekalija i urina kontaminiraju vodu, životne namirnice i sredinu u kojoj se kreću i borave ljudi i životinje. Veoma se često nalaze u stočnoj hrani. Mogu dovesti do različitih oboljenja ljudi i životinja (kod ljudi: trbušni tifus i paratifus, kod životinja – salmoneloze septikemičnog karaktera, kao i alimentarne toksoinfekcije). Toksoinfekcije kod ljudi i životinja se manifestuju gastroenterokolitisom, rjeđe opštom infekcijom. U organizmu ljudi i životinja mogu

duže vrijeme da parazitiraju i da se preko fecesa i urina izlučuju u spoljnu sredinu. Takve životinje predstavljaju kliconoše. Životne namirnice mogu da budu kontaminirane tokom procesa proizvodnje i čuvanja hrane. Često se životne namirnice kontaminiraju u skladištu, ili preko ljudi, kliconoša, ili preko glodara koji su nosioci salmonela. Postoji više od 2400 različitih vrsta salmonela. To su gram negativni, sitni, pokretni štapići. Obrasle su brojnim flagelama. Ne stvaraju spore i kapsule. Izuzetak predstavljaju *Salmonella Gallinarum* i *Salmonella Pullorum* koje nisu pokretne i ne posjeduju flagele. Posjeduju fimbrije. Razlažu glukozu do pojave kiseline i gasa. Laktozu ne razlažu. Skoro sve proizvode H₂S.

S obzirom na svoju otpornost, bakterije roda *Salmonella* su veoma rasprostranjene u prirodi. U spoljnoj sredini, na raznim predmetima mogu da prežive nekoliko časova. U organski zagađenim vodama mogu dugo da žive i da se razmnožavaju. U zamrznutoj vodi ostaju u životu tokom cijele zime. U fekalijama ostaju u životu nekoliko dana. Veoma dugo mogu da se održavaju u životnim namirnicama i stočnoj hrani. Temperatura od 56°C ih ubija za 30 minuta. Prema dezinfekcionim sredstvima slabo su otporne. Obično se koristi hlorni kreč. Osjetljive su prema hloramfenikolu i ampicilinu, a manje prema drugim vrstama antibiotika. *S. Abortusovis* izaziva pobačaje kod ovaca, *S. Abortusequi* – pobačaje kod kobila, *S. Bovismorbificans* – pobačaje kod goveda. *S. Pullorum* izaziva oboljenja kod živine. *S. Typhi* izaziva tifus kod ljudi. *S. Typhimurium* i *S. Enteritidis* izazivaju gastroenteritis sa pojavom proliva kod ljudi i životinja. *Salmonella Choleraesuis* izaziva paratifus svinja i septikemiju. *Salmonella Gallinarum* izaziva tifus kod kokošaka i čuraka. *Salmonella Anatum* je patogena za patke, ali i za druge životinje i čovjeka. Kod ljudi su najbolje prilagođene *Salmonella Paratyphi B* i *Salmonella Paratyphi C*, koje kod njih izazivaju paratifus.

Rod Yersinia

Yersinia pestis

Uzročnik je kuge kod ljudi. Ustanovljena je kod ljudi i glodara. Ljudi se inficiraju preko insekata koji žive sa glodarima, kao što su buve ili preko hrane, koja je zagađena fekalijama insekata. Poznata je i direktna infekcija kontaktom.

To su sitni gram negativni kokoidni štapići. Nisu pokretne. Razmnožavaju se u aerobnim i anaerobnim uslovima. Mogu se razmnožavati na temperaturi od -20 do 40°C. Optimalna temperatura rasta je od 27 do 28°C. Laktozu ne razlažu. Patogena je za ljude i glodare, pacove, bijele miševe i zamorce.

Yersinia pseudotuberculosis

Nalazimo je u prirodi kod divljih glodara, divljeg zeca, poljskog miša, a ustanovljena je i kod fazana, čuraka i nekih domaćih sisara. Kod ljudi su poznate lokalne infekcije izazvane sa *Yersinia pseudotuberculosis*. Patogena je za mnoge glodare. Ustanovljena je kod nekih vrsta domaćih i divljih životinja i ptica.

Familija Burkholderiaceae

Rod Burkholderia

***Burkholderia mallei* (raniji naziv *Pseudomonas mallei*)**

Uzročnik je sakagije (*malleus*), bolesti kopitara (konja, magaraca i mazgi). To je tipična lančana zaraza kopitara hroničnog toka. Pored kopitara, mogu da obole i mesojedi i čovjek. Manifestuje se karakterističnim čvorovima u koži, potkožnom tkivu, sluzokoži i unutrašnjim organima. Najveći primarni izvor zaraze su oboljele životinje, koje svojim iscijetkom iz nosa, sekretom iz kožnih i potkožnih čvorova i iskašljavanjem izlučuju uzročnika i na taj način kontaminiraju vazduh, vodu, hranu i predmete. U spoljašnjoj sredini brzo uginjavaju. Osjetljivi su na dejstvo krezola,лизола, sublimata, fenola i drugih dezinficijenasa. U gnoju ostaju vitalni više nedjelja.

Familija Aeromonadaceae

Rod Aeromonas

Bakterije svrstane u rod *Aeromonas* nalaze se u slatkim vodama, kanalima, ribnjacima i otpadnim vodama. Imaju štapićast ili kokoidni oblik. Po Gramu se ne boje. Mogu da formiraju duže filamentozne oblike, koji dostižu veličinu do 8 µm. Posjeduju flagelu na jednom polu. Razmnožavaju se pri temperaturi od 30°C. Maksimalna temperatura razmnožavanja je 38–41°C. Mogu da se razmnožavaju kod pH 5,5–9,0. Razlažu ugljene hidrate, uz stvaranje kiseline i gasa. Oksidaza i katalaza su pozitivne.

Aeromonas hydrophila – izaziva septikemiju žaba, oboljenja riba, miševa, zamorača i kunića.

Aeromonas punctata je sekundarni uzročnik zarazne bolesti šarana koju primarno izaziva virus.

Aeromonas salmonicida izaziva furunkuluzu pastrmki.

Familija Pasteurellaceae

Ovoj familiji pripadaju rodovi: *Pasteurella*, *Actinobacillus* i *Haemophilus*.

Rod Pasteurella

Ovom rodu pripadaju gram negativne bakterije, kratki, ovalni štapići, raspoređeni pojedinačno ili u parovima. Po Gramu se ne boje. Boje se bipolarno – primaju boju jače na polovima nakon bojenja po Giemzi ili metilenskim plavim. Aerobi su i fakultativni anaerobi. Razmnožavaju se na temperaturi od 22 do 42°C. Optimalna temperatura rasta je 37°C. Nalaze se kao saprofiti u respiratornim organima životinja i ptica. U izmijenjenim uslovima postaju patogene. Patogeno djelovanje pasterela je uslovljeno endotoksinom.

Pasteurella multocida

Rasprostranjena je kod zdravih i oboljelih životinja i ptica. Izaziva koleru živine i ptica. Bolest se manifestuje krvarenjima po serozama i sluzokoži, uz akutni otok limfnih čvorova i na kraju dolazi do uginuća. Nisu pokretne, ne stvaraju spore. Dobro se razmnožavaju na hranljivim podlogama, ali bolje na onim koje sadrže krv, krvni serum ili druge bjelančevine. Na krvnom agaru ne stvaraju hemolizu. Izvan organizma, u spoljnoj sredini, žive vrlo kratko. U suvoj sredini uginu za 2–3 dana. U izmetu i krvi mogu da ostanu vitalne do 10 dana. Temperatura od 60°C uništava ih za kratko vrijeme. Prema dezinfekcionim sredstvima su neotporne. Rastvor NaOH i KOH u koncentraciji od 0,5–1% uništava ih za nekoliko minuta. Takođe ih uništavaju dezinfekcionalna sredstva, kao što su hlorni kreč, kreolin i formalin.

***Mannheimia haemolitica* (raniji naziv *Pasteurella haemolitica*)**

Uzročnik je enzootske pneumonije kod ovaca i teladi i septikemičnog oboljenja kod jagnjadi.

***Riemerella anatipestifer* (raniji naziv *Pasteurella anatipestifer*)**

Dovodi do septikemije kod gusaka, plovaka i čuraka.

***Pasteurella pfaffii* – izaziva septikemije kod kanarinaca.**

Rod Actinobacillus

Bakterije ovog roda su štapićastog do ovalnog oblika, a mogu se zapaziti i duži filamentozni oblici. Nisu pokretne. Ne stvaraju spore. Po Gramu se ne boje. Razmnožavaju se na hranljivim podlogama, obrazujući za 5–7 dana sitne kolonije.

Actinobacillus lignieresii

Uzročnik je actinobacirole kod goveda, ovaca, svinja i ljudi. Oboljenje je slično aktinomikozi. Promjene se javljaju na mekim djelovima lica, koži i jeziku. Razmnožava se u aerobnim i fakultativno anaerobnim uslovima, pri temperaturi između 20 i 39°C. Optimalna temperatura razmnožavanja je 37°C. Laktozu fermentišu za 3–7 dana. Katalaza su pozitivne.

Actinobacillus equi

Izaziva gnojno oboljenje bubrega kod konja i endokarditis kod prasadi. Često obolejavaju ždreibad. Može da dovede i do pobačaja kobila.

Actinobacillus actinooides

Izaziva pneumoniju kod krava i ovaca.

Rod Haemophilus

Ovaj rod obuhvata više vrsta koje se nalaze rasprostranjene kod zdravih i oboljelih životinja i ptica. Bakterije ovog roda su pleomorfno oblika: štapićastog, kokoidnog i filamentoznog. Nisu pokretni. Po Gramu se ne boje. Za rast zahtijevaju sredinu obogaćenu krvnim bjelančevinama. Razmnožavaju se samo u prisustvu X i V faktora rasta. Faktor V se može dobiti ako se zasiju neke bakterije kao što su stafilokoke. Ova pojava rasta hemofilusa u prisustvu stafilokoka naziva se satelitizam.

***Haemophilus parasuis* (raniji naziv *Haemophilus suis*)**

Izaziva enzootsku pneumoniju i influencu svinja. Razmnožava se aerobno i fakultativno anaerobno. Optimalna temperatura je 37°C. Katalaza je pozitivan.

***Avibacterium paragallinarum* (raniji naziv *Haemophilus gallinarum*)**

Nalazi se kod ptica koje boluju od infektivne kijavice, korice. Prema povišenoj temperaturi i dezinfekcionim sredstvima nije otporan. Temperatura od 55°C uništava ga za 4–5 minuta.

***Haemophilus somni* (raniji naziv *Haemophilus somnus*)**

Izaziva bronhopneumoniju kod jagnjadi i ovaca.

Familija Francisellaceae

Rod Francisella

Bakterije ovog roda su veoma sitni, kokobacilarni, elipsoidni i pleomorfni štapići. Po Gramu se ne boje. Gimzom i metilenskim plavim boje se bipolarno. Nisu pokretni. Katalaza su negativni. Razmnožavaju se samo na specijalnim podlogama, sa dodatkom svježe jetre, krvi i seruma kunića. Striktni su aerobi. Mogu se izolovati kod ljudi, životinja, ptica i artropoda.

Francisella tularensis

Uzročnik je tularemije, veoma kontagioznog oboljenja kod glodara, krvnica i domaćih životinja. Vrlo je patogena za ljude. Prenosi se preko vazduha, direktnim kontaktom i preko insekata. Najčešće je prenose: obadi, pecave mušice, obične muve, vaške, buve i krpelji. Najviše obolijevaju lovci, veterinari i laboratorijsko osoblje. Proizvodi endotoksin. Prema povišenoj temperaturi je osjetljiva. Temperatura od 56°C uništava ih za 10 minuta. Tularemija se kod čovjeka manifestuje pojavom groznice, malaksalošću, glavoboljom, bolovima u mišićima, ledima i zglobovima, gubitkom apetita, znojenjem, prolivom itd.

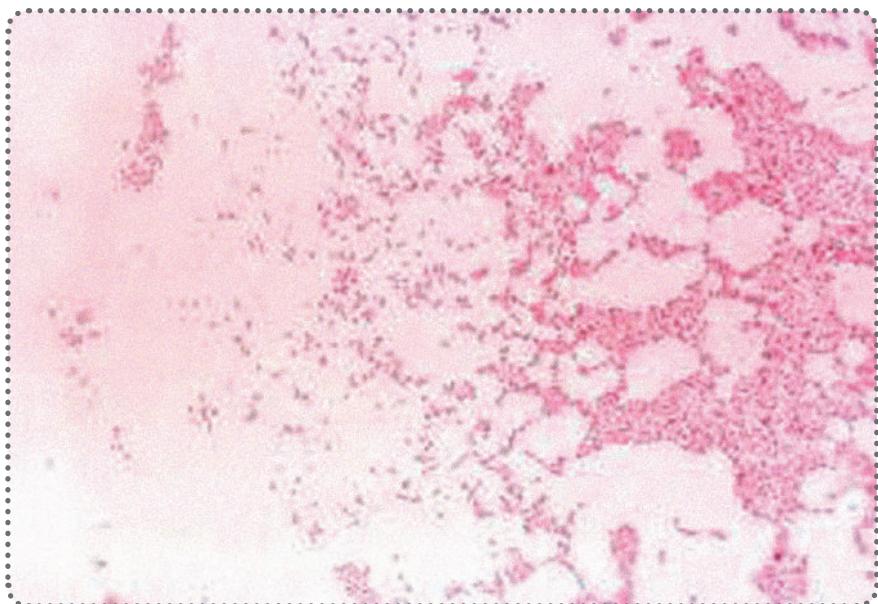
Familija Brucellaceae

Rod Brucella

Ove bakterije su uzročnici bruceloze domaćih i nekih divljih životinja. Brucelozu se prvenstveno javlja kod domaćih životinja: goveda, svinja, ovaca i koza, a rjeđe kod drugih životinja. Brucelozu se sa životinja prenosi na čovjeka. Brucele se nalaze u organizmu inficiranih životinja, odakle se preko mokraće, mlijeka, plodnih omotača, plodne tečnosti i pobačenih plodova izlučuju u spoljašnju sredinu. Životinje se najčešće inficiraju preko zaraženih bikova ili nerastova. Čovjek se inficira preko mlijeka i u direktnom kontaktu sa oboljelim životinjama, što je čest slučaj kod veterinara. Poznato je više vrsta brucela.

Brucella melitensis izaziva brucelozu kod koza i ljudi, ***Brucella abortus*** – kod goveda i ljudi, ***Brucella suis*** – kod svinja, ***Brucella melitensis*** (slika 228) – kod ovaca, ***Brucella canis*** – kod pasa. Brucele su sitni, kokoidni, pleomorfni štapići. Ne posjeduju flagele i nisu pokretne. Gram negativne su. Bojenjem po Kozlovskom brucele se oboje crveno, dok se sve ostale bakterije boje plavo. Ne stvaraju spore i kapsule. Za razmnožavanje brucele zahtijevaju obogaćene podloge. Za rast nekih brucela potrebna je atmosfera sa 10% CO₂. Pripadaju aerobnim i fakultativno anaerobnim mi-

kroorganizmima. U patološkom materijalu mogu veoma dugo da se održe. Pri temperaturi 18–22°C, u stajskom đubriva, zadržavaju vitalnost 120 dana, u vodi 77, a u zemljištu 66 dana. U smrznutom đubretu izdržavaju 800 dana. U pobačenom fetusu, pri nižoj spoljašnjoj temperaturi ostaju žive 70 dana. U hladnom slatkom mlijeku zadržavaju vitalnost nedjeljama, dok u kisjelom propadaju za 2 dana. U srevima sa dužim zrenjem brucele ne opstaju. Međutim, u maslacu i svježim mladim srevima ostaju žive 30 dana. Osjetljive su na dezinfekciona sredstva. Rezistentne su prema penicilinu. Najjači endotoksin proizvodi *B. melitensis*.



SLIKA 228 – *Brucella melitensis*, bojenje po Gramu, 1000x
(http://fundacionio.org/img/bacteriology/img/brucella_03.jpg)

Rod Bordetella

Bakterije ovog roda parazitiraju u respiratornom traktu ljudi, pasa, svinja i drugih životinja. To su sitniji kokobacilarni štapići. Mogu da budu nepokretnе ili pokretnе. Po Gramu se ne boje. Boje se metilenskim plavim bipolarno. Razmnožavaju se na specijalnim podlogama. Striktni su aerobi. Optimalna temperatura rasta kreće se između 35 i 37°C.

Bordetella bronchiseptica

Nalazi se u respiratornim organima svinja, pasa, mačaka, zamoraca i kunića.

Familija Neisseriaceae

Rod Moraxella

Bakterijske vrste roda *Moraxella* parazitiraju na mukoznim membranama kod ljudi i toplokrvnih životinja. To su mali, kokobacilarni štapići pleomorfognog oblika. Spore ne stvaraju, flagele ne posjeduju. Po Gramu se ne boje. Nisu pokretne. Posjeduju kapsulu. Razmnožavaju se na podlogama koje sadrže krv ili krvni serum. Ugljene hidrate ne razlažu. Striktni su aerobi. Ne stvaraju hemolizu na krvnom agaru. Većina sojeva je osjetljiva prema penicilinu.

Moraxella bovis

Nalazi se kod goveda, prasadi, ovaca i kozoroga. Životinje se inficiraju na paši. Pre nose se najčešće insektima ili dodirom. Oboljenje se javlja na oku, u vidu zaraznog keratokonjuktivitisa.

SPIRALNI OBLICI BAKTERIJA

Familija Spirochaetaceae

Rod Treponema

Parazitiraju u digestivnom traktu i genitalnim organima ljudi i životinja. Većina vrsta su strogo anaerobni mikroorganizmi. To su spiralno savijeni, tanki, pokretni mikroorganizmi. Posjeduju jednu ili više aksijalnih fibrila u protoplazmatičnom cilindru. Po Gramu se ne boje. Neke vrste se mogu kultivisati na hranljivim podlogama, uz dodatak krvi ili krvnog seruma. Katalaza i oksidaza su negativne. Posjeduju metabolizam fermentativnog tipa.

Treponema hyos

Nalazi se u digestivnom traktu svinja koje boluju od krvavog proliva. Posjeduje 1–5 spirala. Veoma je pokretna.

Familija Brachyspiraceae

Rod Brachyspira

Brachyspira hyodisenteriae (raniji naziv *Treponema hyodisenteriae*)

Izaziva dizenteriju svinja koju karakteriše teško zapaljenje debelog crijeva uz pojavu sluzavo-krvave dijareje (proliva).

Rod Borrelia

Patogene su za ljude i životinje. U spoljašnjoj sredini veoma brzo propadaju. Prenose se preko krpelja.

Borrelia anserina (*Spirochaeta gallinarum*)

Kod domaće živine i nekih divljih ptica prouzrokuje spirohetozu. Nije patogena za sisare. Posjeduje 5–8 spirala. Boji se anilinskim bojama, najbolje po Giemzi. Za posmatranje spiroheta uspješno se koristi mikroskopski preparat impregniran srebrom (metod po Levaditu) ili tuš preparat (metod po Burriu). Može se razmnožavati samo na specijalnim hranljivim podlogama u anaerobnim uslovima. Oslobađa endotoksin. Aktivna imunizacija se postiže vakcinacijom. Spirohetoza je zarazna bolest kokošaka, gusaka i pataka, koja se javlja kao septikemija. Najčešće se javlja ljeti u vidu masovnih oboljenja i uginuća pernate živine, što je vezano sa biologijom krpelja. Krpelji se hrane krvlju živine. Kada se razgrne perje invadirane živine, po tijelu se golin okom vide krpelji kao zrno crnog bisera. Osim argasida (*Argas persicus*, *Argas reflexus* i dr.), zarazu prenose i vaške *Dermanyssus gallinae*. Kod akutnog toka izrazit znak bolesti je jaka potištenost i pospanost, čučanje na jednom mjestu, sa pognutom glavom i zatvorenim očima. Nakon 4–5 dana dolazi do uginuća.

Rod Leptospira

Spiralnog su oblika, pokretljive, vrlo tanke, gram negativne. Posjeduju 12–18 pravilnih spiralnih zavoja. Vrlo se teško boje. Na mikroskopskom preparatu, po Buriju (*Burri*), leptospire se vide svijetle, dok je ostali dio preparata crno obojen. Za rast zahtijevaju sredinu bogatu nativnim bjelančevinama i aerobne uslove. U prirodi se mogu naći u vodi, barama, kanalima i muljevitom zemljištu. Parazitiraju u organizmu pacova i miševa. Patogene leptospire pripadaju vrsti *Leptospira interrogans* i izazivaju leptospirozu. Važniji serotipovi *Leptospira interrogans* su: L. Icterohaemorrhagiae, L. Bataviae, L. Bovis, L. Autumnalis, L. Pyrogenes, L. Canicola, L. Grippotyphosa L. Sejroe, L. Pomona, L. Hyos. Stvaraju toksin hemolizin koji oštećuje eritrocite. Najviše obolijevaju psi, naročito mladi, telad, goveda, konji i svinje. Mogu se prenijeti sa živo-

tinja na ljude. Inficirane životinje, a najviše pacovi izlučuju preko mokraće leptospire u spoljnju sredinu, kontaminirajući okolinu, vodu i hranu. Preko oštećene sluzokože usta ili kože dospijevaju u organizam, gdje najviše oštećuju bubrege. Bolest se karakteriše groznicom, žuticom, hemoglobinurijom, krvarenjima po koži, sluzokoži i naglim mršavljenjem. Kod goveda i svinja dolazi i do pobačaja. Prema dezinfekcionim sredstvima su osjetljive. Rastvor fenola (1%) ih uništava za pola sata. Osjetljive su prema većini antibiotika. Imunitet se može postići vakcinacijom životinja.

Familija Campylobacteriaceae

Rod Campylobacter

Nalazimo ih kod zdravih i bolesnih životinja u genitalnim organima, digestivnom traktu i usnoj šupljini. Prouzrokuju kod životinja oboljenje koje se naziva vibrioza. Samo neke vrste su patogene za ljude. To su mikroaerofilne, asporogene, štapićaste bakterije, spiralnog izgleda, sa jednim ili nekoliko zavoja. Imaju izgled zapete, slova S ili oblik galebovih krila. Mogu se vidjeti u parovima ili kraćim lancima. Po Gramu se ne boje. Pokretni su. Posjeduju po jednu flagelu na jednom ili oba pola. Ugljene hidrate ne fermentuju. Oksidaza su pozitivni.

Campylobacter fetus

Campylobacter fetus ssp. fetus

Izaziva sterilitet i pobačaj kod goveda. Prenosi se parenjem i osjemenjavanjem životinja. Nalazi se u genitalnim organima oboljelih krava, spermii i prepucijalnoj sluzi bikova, u posteljici i unutrašnjim organima pobačenih plodova. Osjetljiv je prema mnogim dezinficijensima. Osjetljiv je na hloramfenikol, dihidrostreptomicin, eritromicin, neomicin, oksitetraciklin.

Campylobacter fetus ssp. intestinalis

Dovodi do abortusa kod ovaca, a može izazvati oboljenje kod goveda i ljudi. Može se izolovati iz pobačenih plodova, plodovih omotača, krvi, digestivnog trakta ovaca, goveda, ljudi i živine.

Campylobacter jejuni

Izolovan je iz želuca pobačenih plodova ovaca, digestivnog trakta svinja, teladi, goveda, gusaka, živine, čuraka i divljih ptica. Može da dovede do oboljenja kod ljudi. Prenosi se oralnim putem sa životinja na ljude.

Familija Mycoplasmataceae

Rod Mycoplasma

Mikoplazme su najsitnije bakterije sposobne za samostalan život, veličine 0,2–0,3 µm. Među bakterijama su jedinstvene po tome što nemaju čelijski zid. Zbog toga ne mogu da se boje po Gramu, niti drugim standardnim bakteriološkim bojenjima. Pošto nemaju čelijski zid, mikoplazme su prirodno otporne na antibiotike koji sprečavaju njegovu sintezu (β -laktamski i glikopeptidni antibiotici). Mikoplazme su osjetljive i ne mogu da opstanu u spoljnoj sredini, pa bolesnički materijal treba odmah poslije uzimanja da se zasiće na transportnu podlogu. Kultivisu se na hranljivim podlogama, kojima se obavezno dodaje životinjski serum.

Mycoplasma pneumoniae

M. pneumoniae je aerobna, a ostale vrste su mikroaerofilne ili anaerobne. Nalaze se široko rasprostranjene u prirodi kao saprofiti ili kao paraziti ljudi i životinja. Mogu se naći na sluzokoži gornjih respiratornih puteva, intestinalnog i genitalnog trakta, površinama zglobova, kao i u mlijekoži žljezdi goveda. Van domaćina, patogene vrste opstaju u spoljašnjoj sredini zaštićene od svjetlosti, nekoliko dana. Mikoplazme proizvode hemolizine, proteaze, nukleaze i druge toksične faktore, koji dovode do smrti ćelija domaćina ili do hroničnih infekcija. Respiratori trakt i pluća su najčešća mjesta infekcije. Prenose se najčešće polnim putem, vertikalno ili aerosolom. Postoji veliki broj vrsta patogenih mikoplazmi adaptiranih na pojedine vrste životinja: *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* – izaziva zaraznu bovinu pleuropneumoniju, *M. bovis* – izaziva mastitis, artritis, pneumoniju, abortuse kod goveda, *M. agalactiae* – izaziva zaraznu agalakciju kod ovaca ikoza.

Familija Rickettsiales

Rod Rickettsia

Rikecije su striktno intracelularne bakterije. To su mali gram negativni kokobacili koji se teško boje po Gramu, ali dobro po Giemsi. Nemaju kapsulu ni flagele. Iako sintetiši sve metabolite koji su im potrebni za život, moraju da preuzimaju ATP ćelije domaćina i označene su kao „energetski“ paraziti. Prenose se putem vektora (krpelja, buva, grinja, vaši). Rikecije su osjetljive na uticaje spoljašnje sredine – na sobnoj temperaturi bivaju uništene za nekoliko časova, a na temperaturi od 4°C za 24 sata. Međutim, pri povoljnim uslovima temperature i vlažnosti, vaši u izmetu mogu opstati i do godinu dana i pri tome sačuvati svoju virulenciju. Lako se inaktiviraju

sušenjem, dejstvom ultraljubičastih zraka i dezinficijensima. Rikecije se na osnovu vrste oboljenja koja izazivaju, svrstavaju u dvije velike grupe: grupu pjegavog tifusa i grupu šarenih groznica.

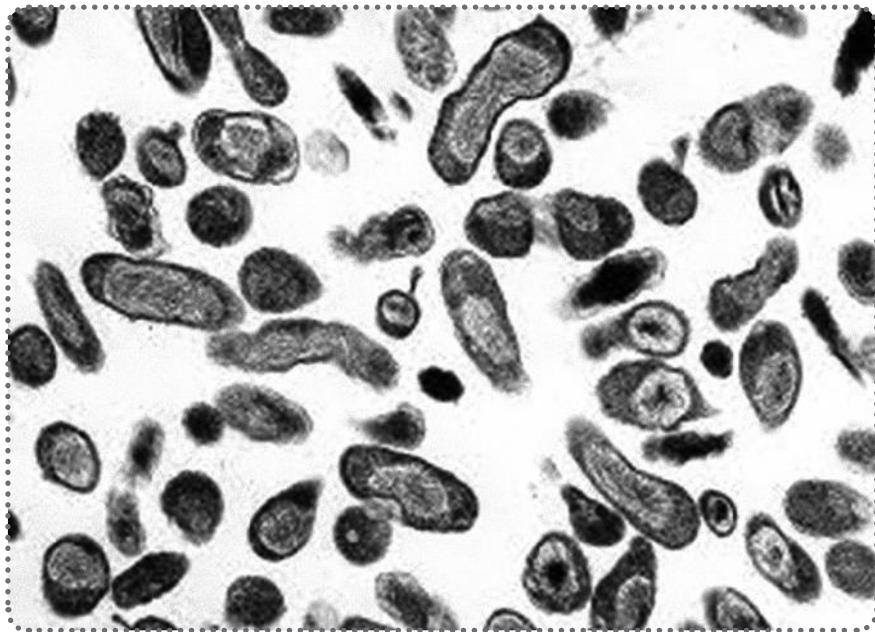
Familija Coxiellaceae

Rod Coxiella

Bakterije ovog roda su fakultativno intracelularne. Od rikecija se razlikuju po izraženoj ekstracelularnoj stabilnosti, većoj otpornosti na hemijska jedinjenja i mogućnosti prenosa na čovjeka aerogenim putem.

Coxiella burnetti

To je mala, izrazito polimorfna bakterija u obliku kokobacila ili bacila (slika 229), manjih dimenzija od rikecija. Izaziva Q groznicu od koje obole ovce, koze i goveda, a prenosi se i na čovjeka, pa spada u zoonoze. Q potiče od engleske riječi *query* – znak pitanja, nepoznat, jer se u početku nije znalo koja je bolest u pitanju. Dosta je otporan mikroorganizam. Van organizma održava se duže vremena. Otpornija je na zagrijavanje od *Mycobacterium tuberculosis*, pa se pri pojavi Q groznice preporučuje visoka pasterizacija (pri temperaturi od 82°C, u trajanju od 20 sekundi). U mlijeku i mliječnim proizvodima održi se i do 3 mjeseca. Sušenje dobro podnosi. U osušenom izmetu krpelja, krvi ili drugom infektivnom materijalu dugo zadržava virulenciju. Niske koncentracije formalina (0,2%) i fenola (0,4%) uništavaju ga za nekoliko dana. Kod mnogih životinja bolest prolazi u vidu latentne infekcije. Ako se javе znaci bolesti, oni mogu biti različiti: bronhopneumonija kod ovaca i koza, a kod goveda pobačaj i mastitis. Može se prenijeti na razne načine, kao npr. udisanjem prašine nastale sušenjem infektivnog materijala. Mlijeko, mliječni proizvodi, kao i druge animalne sirovine (vuna, koža), takođe su od značaja u prenošenju infekcije. Pošto izaziva pobačaj, pobačeni plod, njegovi omotači i plodna tečnost mogu biti izvor infekcije. Pored ovih načina prenošenja, *C. burnetti* se prenosi i krpeljima. Krpelji koji nose *C. burnetti* dugo su infektivni (i do tri godine) i izlučuju je izmetom. Q grozna ljudi može biti akutna i hronična. Nakon inkubacionog perioda od 1–3 nedjelje bolest počinje visokom temperaturom, groznicom, glavoboljom i bolovima u mišićima. Kod bolesnika se razvija atipična pneumonija, a primarna ciljna ćelija je alveolarni makrofag. Bakterijemijom se prenose u druge organe, najčešće u jetru, pri čemu dolazi do razvoja hepatitisa, a mogu da se javе i kardiovaskularne komplikacije. Oboljenje često može biti i bez simptoma. Srce je najčešće organ zahvaćen hroničnom infekcijom, sa stopom smrtnosti od 50%.



SLIKA 229 – *Coxiella burnetii*, (TEM polimorfne ćelije – ćelije različitog oblika)
(http://en.wikipedia.org/wiki/File:Coxiella_burnetii_01.JPG)

Familija Chlamydiaceae

Rod Chlamydia

Hlamidije su obligatno intracelularne bakterije koje su ranije smatrane velikim virusima. Nasuprot ostalim bakterijama, nemaju peptidoglikan u ćelijskom zidu. Ove bakterije nisu sposobne da sintetišu ATP i ne rastu na vještačkim hranljivim podlogama. Hlamidije su nepokretne, gram negativne bakterije, koje se morfološki javljaju u dvije različite forme: elementarno tijelo i retikularno tijelo. Elementarno tijelo je infektivna forma odgovorna za ulazak u ćeliju, unutar koje se reorganizuje u retikularno tijelo. U laboratorijskim uslovima hlamidije se kultivisu u laboratorijskim životinjama, najčešće miševima, kokošjim embrionima i kulturama tkiva. Prouzrokuju oboljenja raznih vrsta životinja, a neka od njih su zoonoze. Najčešće se prenose kapljicama sekreta iz respiratornog trakta, prašinom sasušenog sekreta i ekskreta, alimentarnim putem, placentarno, a nekada i insektima koji se hrane krvlju. Hlamidije obično uzrokuju hronična oboljenja sa recidivima, što ukazuje da ne izazivaju efikasnu imunološku reakciju. Osjetljive su na neke antibiotike. Antibiotici koji inhibiraju proteinsku sintezu (tetraciklini, hloramfenikol), efikasni su protiv hlamidija.

Chlamydia psittaci

Uzrokuje papagajsku groznicu (psitakozu) kod ptica iz roda papagaja, a prenosi se i na čovjeka, pa bolest spada u zoonoze. Bolest se javlja i kod drugih ptica (kokoši, golubovi, kanarinci, vrapci, zebe, patke i dr.) i kod njih se zove „ornitoza“. U osušenim kapljicama sekreta iz respiratornog trakta zadržava virulenciju nekoliko dana. Temperatura od 60°C inaktivira je za 10 minuta. Za prenošenje zaraze najopasnije su hronično oboljele ptice ili one koje ne pokazuju znake bolesti. Preboljele ptice ili ljudi mogu postati kliconoše. Na zdrave ptice ili čovjeka prenosi se neposrednim kontaktom, iskašljanim kapljicama sekreta ili prašinom koja sadrži sasušeni, infektivni sekret. Serološke reakcije su podesne za otkrivanje latentnih infekcija.

Chlamydia ovis

Chlamydia ovis je varijetet *Chlamydia psittaci*, a uzrokuje pobačaj kod ovaca, koza i goveda.

PITANJA

1. Navedi neke patogene bakterije i zarazne bolesti koje izazivaju.
2. Koje su osnovne osobine mikoplazmi?
3. Koje su osnovne osobine rikecija?
4. Koje su osnovne osobine hlamidija?

GLJIVE – UZROČNICI ZARAZNIH BOLESTI ŽIVOTINJA

Postoje saprofitske, parazitske i parazitsko-fakultativne vrste gljiva. Oboljenja prouzrokovana gljivama nazivaju se mikoze, a bolesti izazvane njihovim toksinima mikotoksikoze. Zavisno od mjesta lokalizacije, mikoze se dijele na: površinske (dermatomikoze) i unutrašnje (sistemske) mikoze.

PATOGENI KVASCI

Rod Cryptococcus

Cryptococcus neoformans (*Torula neoformans*)

Prouzrokuje kriptokokozu ljudi i životinja. Bolest se manifestuje promjenama na moždanim ovojnicama i plućima. Kod goveda može da dovede do pojave pneumonija i mastitisa. Poznata su i oboljenja divljači. Nalazi se raširen u zemljишtu. Ćelije su ovalnog oblika. Stvaraju kapsulu.

Cryptococcus farciminosus (*Histoplasma farciminosus*)

Kod kopitara prouzrokuje hronično infektivno oboljenje poznato pod nazivom *Lymphanginitis epizootica*. U prirodi najviše obolijevaju konji i mazge. Magarci su dosta otporni. Uzročnik se izuzetno može naći kod ljudi. Bolest je prvi put utvrđena u Africi, a zbog sličnosti sa sakagijom konja naziva se Afrička sakagija. U mikroskopskom preparatu napravljenom iz gnoja nalaze se pojedinačno raspoređeni uzročnici. U preparatima iz kultura mogu se naći pojedinačno, ali i u kraćim lancima (pseudomicelijum). Za rast i razmnožavanje koriste aerobnu sredinu. Ne fermentišu ugljene hidrate.

Uzročnik je veoma otporan na spoljne faktore. Povišena temperatura od 80°C uništava ih za nekoliko minuta. Izložen direktnoj sunčevoj svjetlosti propada za pet dana. Dezinfekciona sredstva, kao što su 5% rastvor fenola, 3% rastvor lizoforma, 1% rastvor sublimata sporo ga uništavaju. U gnuju uzročnici mogu da ostanu vitalni i do 6 mjeseci.

***Cryptococcus capsulatus* (*Histoplasma capsulatum*)**

Izaziva histoplazmozu ljudi i životinja, koja se manifestuje poremećajima u varenju, pojavom anemije, leukopenijom i pogoršanjem opšteg zdravstvenog stanja.

Rod Candida

Kvasci iz roda *Candida* karakterišu se čelijama koje mogu da imaju različit oblik. Razmnožavaju se obrazujući hlamidospore ili multilateralnim pupljenjem. Mogu da stvaraju pseudomicelije. Posjeduju metabolizam fermentativnog ili oksidativnog tipa.

Candida albicans

Nalazi se rasprostranjena u različitim sredinama. Kao ubikvitan mikroorganizam, prisutan je u vazduhu, zemljишtu, na biljkama i njihovim plodovima, koži i sluzokoži ljudi, životinja i ptica. Uzročnik je kandidijaze. Oboljenje se manifestuje promjena na sluzokoži usta (slika 230), voljke i jednjaka, zapaljenjem sluzokože vagine i pojavom endometritisa. Može da uzrokuje mastitis krava. Čelije su okruglog ili ovalnog oblika. Nalaze se pojedinačno ili u obliku pseudomicelija. Pseudomicelije su sastavljene od blastospora koje imaju okrugli oblik i masivnu kapsulu.

Druge vrste kvasaca roda *Candida*, kao što su: *Candida tropicalis*, *Candida rugosa*, *Candida parapsilosis*, *Candida famata*, *Candida kruzei* i druge, takođe mogu biti patogene.



SLIKA 230 – Kandidijaza na sluzokoži jezika
(<https://zdravljeza21vek.com/sta-je-kandida>)

PATOGENE PLIJESNI

Rod Mucor

Nalazi se u prirodi u različitim sredinama, a najviše u životnim namirnicama i stočnoj hrani. Neke vrste su korisne. Imaju razvijene fermentativne osobine. Koriste se za dobijanje alkohola. Neke vrste, kao što je *Mucor mucedo*, mogu kod ljudi da dovedu do pojave oboljenja koje je po promjenama slično tuberkulozi kod ljudi.

Rod Aspergillus

Ove plijesni se nalaze u prirodi u različitim sredinama. Mogu se naći u životnim namirnicama i stočnoj hrani. Neke vrste su korisne i koriste se u farmaceutskoj industriji, dok su neke patogene za ljude i životinje. Bolesti izazvane ovim plijesnima se nazivaju aspergiloze. Proizvode jake toksine i mogu da izazovu trovanja. Otporne su prema visokoj koncentraciji soli i ugljenih hidrata. Mogu da se razmnožavaju i na temperaturi višoj od 37°C. Mogu izazvati sistemsku aspergilozu kod životinja sa oslabljenim imunitetom i dugo liječenih antibioticima. Takođe mogu dovesti do pojave pneumonije, abortusa, dijareje, groznice, dermatitisa, keratitisa (zapaljenja rožnjače), otomikoze (zapaljenja uha), mastitisa (zapaljenja mlijecne žljezde) i dr.

Najznačajnije patogene vrste su *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* i dr.

Grupa Dermatophytes

Rodovi plijesni svrstani u ovu grupu imaju keratolitičke fermente i izazivaju oboljenja na koži, dlaci, perju i noktima. Oboljenja nastala djelovanjem dermatofita nazivaju se dermatomikoze ili dermatofitije. Nalaze se kod ljudi, životinja i ptica. Prenose se direktno sa životinje na životinju ili preko predmeta (pribor za čišćenje, oprema). Uzročnici su zoonoza. U razvoju dermatomikoza značajnu ulogu igraju predisponirajući faktori, kao što su opšta kondicija, zdravstveno stanje, starost. Grupi *Dermatophytes* pripadaju rodovi plijesni *Trichophyton*, *Microsporum* i *Epidermophyton*.

Rod Trichophyton

U rod *Trichophyton* svrstani su dermatofiti koji posjeduju artrospore (dermatofiti – gljive koje izazivaju oboljenja kože životinja i ljudi).

Trichophyton mentagrophytes

Uzročnik je trihofilija ljudi i životinja (slika 231). Hife sa artrosporama nalaze se i u dlaci. Formira koloniju bijele boje sa zrnastom strukturom u centru. Stvara mikro i makronokidije.



SLIKA 231 – Promjena na koži u vidu crvenog prstena izazvana sa *Trichophyton mentagrophytes*

(https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Ringworm_on_the_arm,_or_tinea_corporis_due_to_Trichophyton_mentagrophytes_PHIL_2938_lores.jpg)

Trichophyton gallinae

Patogen je prvenstveno za kokoške, a manje za čurke i druge ptice. U početku bolesti nalazi se na kljunu i oko očiju, na koži, a zatim prelazi i na perje ptica.

Trichophyton equinum

Patogen je za konje. Može se naći kod ljudi, ali vrlo rijetko.

Trichophyton verrucosum

Nalazi se kod goveda, rijetko kod drugih životinja.

Rod Microsporum

U rod *Microsporum* svrstani su dermatofiti koji imaju vretenaste, septirane makrokonidije. *Microsporum canis* je uzročnik dermatofitije pasa i mačaka. Spore se nalaze oko dlake. *Microsporum gypseum* je patogen za ljude i životinje. Posjeduju septirane hife i makrokonidije. Mogu se naći i mikrokonidije. Raste dobro na podlogama u vidu baršunastih smeđesivih kolonija. *Microsporum nanum* se nalazi kod svinja, gdje dovodi do alopecije. Nalazi se u zemlji, odakle se svinje inficiraju.

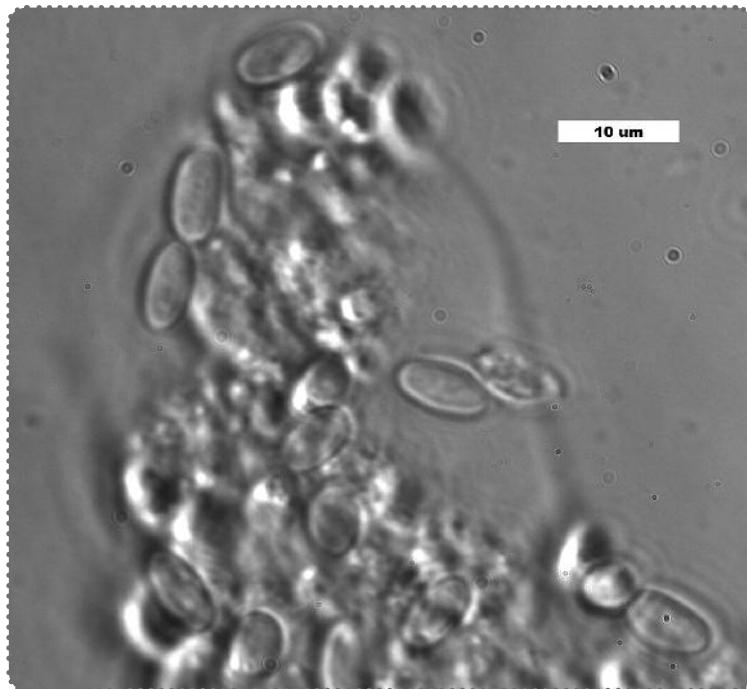
Rod Nosema

Nosema apis

Nosema apis parazitira u digestivnim organima pčela i može da izazove masovno uginuće. Prenosi se vodom i hranom u kojima se nalazi u obliku spora (slika 232). Napada epitelne ćelije crijeva pčela. Uzrokuje bolest poznatu kao nozemoza. Bolest se manifestuje prolivom, puzanjem i uginućem pčela. Infekcija zdrave pčele nastaje putem spora izlučenih preko izmeta zaraženih pčela. Spore dospijevaju preko vode, polena i druge hrane u digestivni trakt novog domaćina. Ovaj mikroorganizam je ranije bio svrstan u protozoe, ali se metodama molekularne genetike utvrdilo da je srodnija gljivama.

Nosema ceranae

Ova vrsta nozeme takođe izaziva nozemozu pčela. Spore *N. ceranae* (slika 232) se mikroskopski ne mogu razlikovati od spora *N. apis*.



**SLIKA 232 – Spore *Nosema ceranae*, ovalnog oblika
– nalik zrnu pirinča, nativni preparat**
(http://windowbee.com/nosema-ceranae_en)

PITANJE

1. Navedi neke gljive koje su izazivači oboljenja kod životinja.

VIRUSI – UZROČNICI ZARAZNIH BOLESTI ŽIVOTINJA

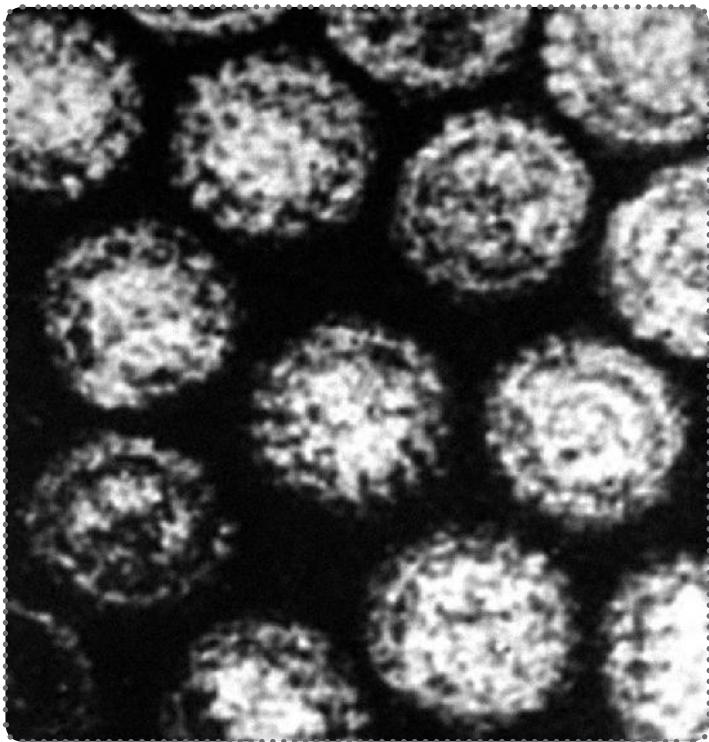
VIRUS SLINAVKE I ŠAPA

Pripada familiji *Picornaviridae*, rod *Aphtovirus* (slika 233). Sadrži RNK. Ovo je prvi virus koji je otkriven kao izazivač oboljenja kod životinja. Otporan je naročito u sredini sa dosta organskih materija (slina, izumrle ćelije), gdje osušen može da se održi više od mjesec dana, zimi i duže. Ovo je od velikog značaja za širenje virusa. U zamrznutom mesu održava se vrlo dugo. U salamurenom mesu ostaje aktivan mjesec dana. U mljeku, na sobnoj temperaturi, preživi oko mjesec dana, a na temperaturi od 4°C nešto duže, oko 1,5 mjeseci. U kisjelom mljeku gubi aktivnost za dva dana. U srevima biva uništen tokom zrenja. Na obući i odjeći ljudi živi i do 100 dana. U otpadnim vodama zadržava aktivnost i preko 3 mjeseca. Dobro podnosi niske temperature, na primjer, na -20°C ostaje aktivan dvije godine. Prema temperaturi je neotporan, inaktivira ga temperatura od 56 do 60°C, za 30 minuta. Svi sojevi nisu podjednako osjetljivi na dejstvo temperature.

Najefikasniji dezinficijensi su jake baze: NaOH i KOH. Pare formalina su pogodne za uništavanje virusa u prostorijama. Otporan je na dejstvo alkohola, etra, hloroforma i drugih rastvarača masti. Glicerin ga konzerviše. Ovaj virus odlikuje se velikom promjenljivošću antigenske građe. Postoje dva antigenski različita tipa virusa slinavke i šapa.

Virus se izlučuje obično slinom, u kojoj ga najviše ima za vrijeme prskanja vezikula (afti). Za vrijeme febrilnog stanja, kada se virus nalazi u krvi (viremija), izlučuje se mokraćom, balegom, mljekom, spermom. Na zdrave životinje prenosi se direktno i indirektno. Pokazuje afinitet prema sluzokoži usta, koži između papaka, krunkog ruba i vimena. Prouzrokuje vezikule i ulceracije inficiranih mjesta, a samim tim i određenu sliku bolesti. Letalitet kod mladih jedinki je visok, preko 70%.

Klicnoše su vrlo značajne za održavanje virusa u prirodi. Goveda koja su preboljela slinavku i šap stiču imunitet koji nastaje 6–7 dana od izbijanja bolesti, a traje oko 1 godinu, nekad i duže. Za suzbijanje slinavke i šapa postoji nekoliko vrsta vakcina.



SLIKA 233 – Virus slinavke i šapa (SEM)
(<http://veterina.info/vesti/25-goveda/bolesti-goveda/209-slinavka-i-ap>)

FAMILIJA POXVIRIDAE

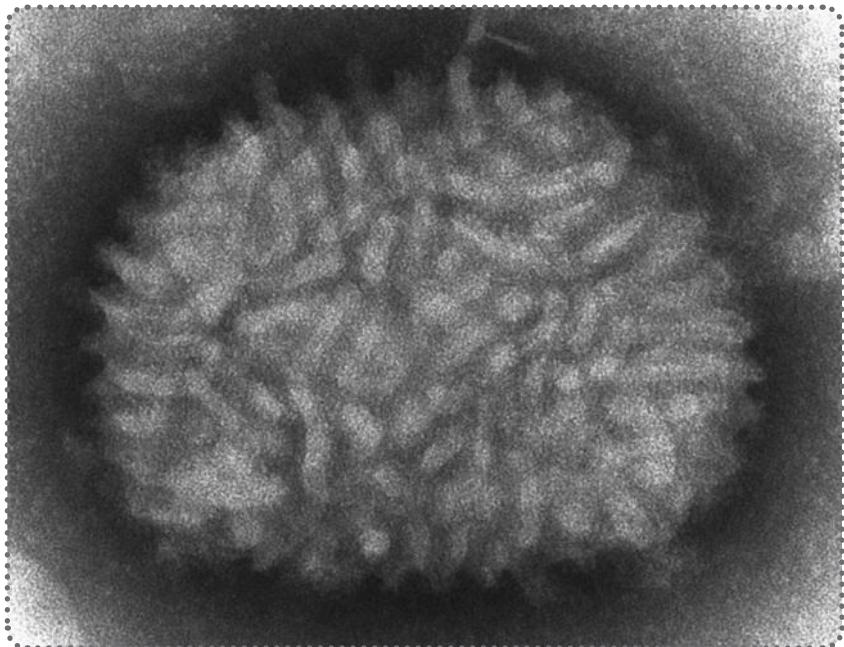
U familiju **Poxviridae** je svrstano više rodova virusa:

- *Orthopoxvirus* (uzročnik variola – velikih boginja kod ljudi, boginja kod krava, miševa, majmuna i kunića);
- *Avipoxvirus* (izaziva boginje kokoši, čuraka, kanarinaca, golubova i drugih ptica);
- *Capripoxvirus* (izaziva boginje koza i ovaca);
- *Leporipoxvirus* (izaziva miksom kunića, fibrom kunića, zeca i vjeverice);
- *Parapoxvirus* (izaziva muzačke čvoriće, contagiozni ektim, papulozni dermatit goveda);
- *Entomopoxvirus* (izaziva oboljenja kod insekata).

Ovo su najkrupniji virusi koji izazivaju oboljenja životinja, mogu da se vide svjetlosnim mikroskopom, pa su zato, kada su otkriveni, dobili naziv „elementarna tjelašća“. Virioni liče na kutiju šibica za zaobljenim ivicama, veličine 200–300 nm. Sadrže dvolančanu DNK. Vrlo su otporni. U osušenom infektivnom materijalu mjesecima se održe na sobnoj temperaturi, a na 4°C još duže. Prilično su otporni na uobičajena dezinfekciona sredstva. Otporni su na 1% fenol na 4°C, ali ne i na 37°C. Oksidaciona sredstva ih brzo inaktiviraju. Temperatura od 60°C inaktivira ih za 10 minuta. Sadrže više različitih antigena.

Virus boginja

Boginje se javljaju kod svih vrsta domaćih životinja, osim kod pasa i mačaka. Virus (slika 234) prodire u organizam obično kroz respiratorni trakt. U vrijeme inkubacije razmnožava se u regionalnom limfnom čvoru, odakle se prenosi u retikuloendotelne ćelije u unutrašnjim organima, u kojima se razmnožava, a odatle prenosi u kožu i sluzokožu, gdje izaziva karakteristične promjene. Ćelije epiderma proliferišu, nastaju papule, zatim vakuole, oko kojih se razvija zapaljenska reakcija. Vezikule se povećavaju, ispunjavaju izumrlim ćelijama i leukocitima i nastaje pustula. Virus počinje da se izlučuje iz organizma u vrijeme prskanja vezikula ili pustula, kao i odvajanjem krasta sa pustula. U spoljnoj sredini se nalazi u raznim sekretima i ekskretima.



SLIKA 234 – Virus boginja (TEM)
(<http://en.wikipedia.org/wiki/Vaccinia>)

Virus kravljih boginja

Kravlje, konjske i velike boginje čovjeka uzrokuju vrlo srodne varijante virusa variole. Kravlje boginje obično prenose muzači rukama. Poslije preboljenja bolesti, goveda stiču praktično doživotan imunitet.

Virus paravakcine

Izaziva oboljenje slično kravljim boginjama. Bolest se prenosi i na čovjeka, a poznata je pod nazivom „muzački čvorići“.

Virus kontagiozne ektime

Kontagiozna ektima (kontagiozni pustulozni dermatit) je bolest koja se karakteriše osipom, sličnom boginjama, oko usta, iznad papaka i po genitalnim organima. Prirodno obole ovce i koze, može da oboli i čovjek. Iz oboljelog organizma izlučuje se krastama, a prenosi direktno i indirektno. Dodirom se prenosi naročito na jagnjad koja sisaju oboljele ovce. Preboljenjem se stiče solidan imunitet. U nekim zemljama primjenjuje se aktivna imunizacija.

VIRUS AFRIČKE SVINJSKE KUGE

Pripada familiji *Asfaviridae* i rodu *Asfivirus*. Izaziva afričku svinjsku kugu, bolest koja je vrlo slična svinjskoj kugi (američko-evropskoj), a ispoljava se promjenama na krvnim sudovima, stvaranjem tromba, nekrozom ćelija limfatičnog tkiva. Dosta je otporan virus. U infektivnom materijalu, na 4°C ili sobnoj temperaturi, održi se mjesecima, a po nekim podacima i godinama. Prema temperaturi je osjetljiv. Na 60°C gubi aktivnost za 10 minuta. Dosta je otporan prema dezinfekcionim sredstvima. Najaktivniji su NaOH, koji ga u koncentraciji od 2% inaktivira tek za 24 časa, a 1% formalin – za 6 dana. Iz oboljelog organizma izlučuje se sekretima i ekskretima. Na zdrave svinje prenosi se indirektno, hranom i vodom ili direktno – kapljicama sekreta. Neke vrste krpelja prenose virus (*Ornithodoros*). Virus se razmnožava u njima i prenosi transovarijalno. Kod domaće svinje izaziva akutno, febrilno oboljenje sa visokim mortalitetom. U organizam prodire kroz organe za disanje. Svinje koje prebole zarazu ili su vakcinisane atenuiranim virusom otporne su na ponovnu infekciju.

VIRUS BJESNILA

Svrstan je u familiju *Rhabdoviridae*, rod *Lyssa* virus. Štapićastog je oblika, jedan kraj je zaobljen, a drugi oštro odsječen, pa liči na puščano zrno (slika 235).



SLIKA 235 – Virus bjesnila (TEM)

(<http://web.stanford.edu/group/virus/rhabdo/2004bischoffchang/Rabies%20Profile.htm>)

Virus bjesnila ima lipoproteinski omotač, ispod koga se nalazi proteinska membra- na koja okružuje nukleokapsid. Genom čini jednolančana RNK. Bjesnilo je akutno infektivno oboljenje životinja i čovjeka, praćeno promjenama funkcije centralnog nervnog sistema sa smrtnim ishodom. Obole svi sisari, rjeđe kokoši. Guske, patke, golubovi, fazani i paunovi mogu se vještački inficirati. Gmizavci i ribe su neprije- mljivi. Virus bjesnila je dosta neotporan. U moždanoj masi, na sobnoj temperaturi, virus se održi 14 dana, a na 4°C nekoliko nedjelja, zamrznut mnogo duže. Nestabilan je prema temperaturi od 56 do 60°C, koja ga inaktivira za 5–10 minuta. Ultra-

Ijubičasti zraci ga takođe brzo inaktiviraju. Inaktiviraju ga etar, hloroform, tripsin. Jake baze, kiseline i formalin inaktiviraju virus bjesnila za nekoliko minuta. Slično djeluju živine soli i kalijum permanganat, dok ga fenol inaktivira sporo (1% za 2–3 nedjelje). Virioni imaju više antigena.

Virus se izlučuje slinom inficiranih životinja. Prijemljivi organizmi inficiraju se slijnom koja dospije u rane nastale ujedom bijesnih životinja ili u druge povrede na koži. Virus se izlučuje slinom 3–12 dana prije pojave znakova bolesti. Rijetko se izlučuje mlijekom, dok ga u ostalim sekretima nema. Prirodni rezervoar virusa bjesnila su divlji karnivori. Kod nas su najznačajniji lisice i vukovi. Inkubacija je obično duga, 1–2 nedjelje ili više. Virus je neurotropan, tj. pokazuje veliki afinitet prema nervnom tkivu. Krupni agregati virusnog antiga poslati su pod nazivom „Negrijeva tjelašca“. Bolest se manifestuje nervnim simptomima, strahom, hidrofobijom, hipersalivacijom, progresivnom slabošću mišića, a ishod je letalan. Vakcine protiv bjesnila stvaraju imunitet koji traje najmanje 9 mjeseci.

Postoje dva tipa vakcina: sa živim, atenuiranim virusom (Pasterova vakcina) i sa inaktiviranim virusom. Preventivno se vakcinišu psi i mačke, a postinfektivno ostale domaće životinje i čovjek. Preporučuje se i postinfektivna upotreba imunog seruma. Njega treba ubrizgati lokalno, u mjesto infekcije i oko njega. To se mora uraditi tokom prvih nekoliko časova poslije infekcije, a zatim se nastavlja sa vakcinacijom. Sam serum produžava period inkubacije, ali ne može da spriječi krajnji ishod bolesti.

VIRUS ENZOOTSKE LEUKOZE GOVEDA

Svrstan je u familiju *Retroviridae*, podfamiliju *Orthoretrovirinae*, rod *Deltaretrovirus*. Njihov genom čini jednolančana RNK. Izaziva maligni limfom goveda, koji se karakteriše promjenama u limfatičnom tkivu i krvnoj slici. Prenosi se vertikalno, tj. intrauterino na fetus i horizontalno – mlijekom na tek rođenu telad. Izvori zaraze su inficirane životinje, koje su klinički ili subklinički oboljele od ove bolesti. Virus napada limfatične ćelije i izaziva brzu i progresivnu proliferaciju.

VIRUS INFJEKTIVNE ANEMIJE KOPITARA

Svrstan je u familiju *Retroviridae*, podfamiliju *Orthoretrovirinae*, rod *Lentivirus*. Genom virusa čini RNK. Virus napada konje, mule, mazge i magarce. Infektivna anemija se karakteriše hemoragičnom dijatezom, smanjenjem broja eritrocita, povremenom groznicom i opštom slabošću. Virus infektivne anemije je vrlo otporan. Osušen u krvi, u spoljnoj sredini zadržava aktivnost više mjeseci ako je zaštićen od sunčeve svjetlosti.

Osjetljiv je na dejstvo rastvarača masti. Virus se izlučuje krvlju, mokraćom, balegom, slinom, spermom i dr. U organizmu inficiranih životinja dugo se zadrži, 6–12 godina (perzistentna infekcija). Prenosi se hranom, vodom, intrauterino i mlijekom. Razni insekti, naročito *Stomoxys* i *Tabanidae*, mogu biti mehanički prenosioci.

Vлага i temperatura su preduslovi za razvoj insekata, koji imaju primarnu ulogu u širenju ove zaraze. Infektivna anemija se karakteriše perzistentnom infekcijom, pri čemu se u organizmu nalaze istovremeno antitijela i virus.

Virus stimuliše stvaranje antitijela. Znatnu dijagnostičku vrijednost ima imunodifuzija (precipitacija u agaru), pomoću koje se mogu otkriti antitijela u hronično inficiranih konja tokom dužeg vremenskog perioda.

VIRUS KATARALNE GROZNICE OVACA (MODRI JEZIK, PLAVI JEZIK, BLUE TONGUE)

Svrstan je u familiju *Reoviridae*, rod *Orbivirus*. Ima dvolančanu RNK. Razmnožava se u insektima. Kataralna groznica ovaca (bolest plavog jezika, pseudoslinavka) je oboljenje ovaca praćeno zapaljensko-nekrotičnim promjenama po ustima i jeziku, koji otice i postaje cijanotičan. Bolest je prvi put otkrivena u Južnoj Africi, a javlja se i u Evropi i Americi. Vrlo je otporan virus. Dugo može da se održi u organskoj materiji. U krvi osušenoj na vazduhu održi se više mjeseci. Otporan je na dejstvo etra, hloroforma i dezoksiholata. Osjetljiv je prema tripsinu i kisjelom pH. Relativno je otporan prema mnogim dezinficijensima, kao što su: NaOH, natrijum karbonat i etilalkohol. Prenose ga vrste komaraca iz roda *Culicoides*. Pored promjena na ustima i jeziku, virus izaziva oboljenje digestivnog trakta praćeno dijarejom, respiratornog trakta sa sekrecijom iz nosa i očiju, kao i oboljenje krunskog ruba, koje se manifestuje šepanjem. Preboljele životinje stiču imunitet.

FAMILIJA HERPESVIRIDAE

Herpes virusi su gradieni od DNK lanca, kapsida i peplosa. Osjetljivi su na dejstvo rastvarača masti (hloroform, etar), jer sadrže lipide. Temperatura od 56 do 60°C ih inaktivira za 30 minuta. Osjetljivi su u kisjeloj sredini (pH 3).

Rod Varicellovirus

Virus Aujeckijeve bolesti

(Svinjski herpes virus 1)

Izaziva Aujeckijevu bolest (lažno bjesnilo). To je akutna infektivna bolest svinja, goveda, konja, pasa, mačaka, raznih divljih životinja, krvnašica i glodara. Ispoljava se znacima oboljenja mozga i kičmene moždine. Bolest je vro rasprostranjena. Spada u dosta otporne viruse. U sijenu i prostirci ostaje aktivan ljeti do mjesec dana, a zimi i duže. Direktna sunčeva svjetlost inaktivira ga za 6 časova, a UV zraci za 1 minut. Glicerin ga konzerviše duže vrijeme. Najefikasniji dezinficijensi su NaOH (3%) i formalin (1%). Glavni rezervoar u prirodi su svinje i pacovi. Ove životinje mogu da izlučuju virus bez znakova bolesti. Druge životinje se zaraze od njih kontaktom. Svinje se zaraze jedući leševe uginulih pacova. Prirodna vrata infekcije su najčešće sluzokoža nosa i farinksa. Na tim mjestima virus se lokalno razmnožava, a odатle prenosi nervnim vlaknima do centralnog nervnog sistema. Letalitet kod prasadi može biti i do 95%. Vakcinišu se prasad i odrasle krmače.

Virus infektivnog bovinog rinotraheitisa i infektivnog pustuloznog vulvovaginitisa (Govedi herpes virus 1)

Infekcija izazvana ovim virusom pojavljuje se u više kliničkih oblika:

- infektivni bovini rinotraheitis (IBR) je akutno oboljenje gornjih respiratornih puteva, praćeno konjuktivitisom i oboljenjem pluća, od koga obole pretežno junad, a izvjesni spoljni faktori doprinose brzom širenju bolesti;
- bolest genitalnih organa, poznata u Evropi kao *exanthema coitale vesiculosum*, a u Americi kao infektivni pustulozni vulvovaginitis (IPV).

Infekcija organa za disanje nastaje kapljicama iskašljanog sekreta, a rjeđe indirektno (hranom, transportnim sredstvima, radnicima). Nepovoljni uslovi držanja (prekomjerno grupisanje u objektima) i ishrane stoke olakšavaju nastanak bolesti. Izvještan broj preboljelih grla postaju kliconoše. Infekcija polnih organa najčešće nastaje koitusom. Pojavljuje se osip i zapaljenje vulve, vagine i prepucijuma. Može doći i do pobačaja. Inficirani bikovi (latentna infekcija) mogu spermom da izlučuju virus i do dvije godine. Virus IBR je raširen i među drugim vrstama životinja (svinje, jelen, bivo, lasice, vidre). Preboljenjem ili poslije vakcinacije, imunitet traje više mjeseci.

VIRUS SVINJSKE KUGE

Svrstan je u familiju *Flaviviridae*, rod *Pestivirusus* (slika 236). Sadrži jednolančanu RNK. Svinjska kuga je akutno infektivno oboljenje, koje se karakteriše viremijom, određenim promjenama na unutrašnjim organima i oštećenjem krvnih sudova. Obole prvenstveno domaće svinje. Divlje svinje su manje osjetljive. Virus je prilično otporan. U spoljnoj sredini, u isušenoj krvi virus preživi oko 15 dana. U smrznutom mesu ostaje aktivan godinama. Meso držano u salamuri, a poslije dimljeno, sadrži virus šest mjeseci. Prema temperaturi je dosta stabilan. U infektivnom materijalu, na 30°C, održi se tri dana, a na 37°C – duže od sedam dana. Na 70°C očuva aktivnost godinama. Najefikasniji dezinficijensi su NaOH (1–2%) i krečno mlijeko (5%), koji ga uništavaju za 1 sat. Inaktiviraju ga i rastvarači masti (hloroform i etar), krezol, beta-propiolakton, tripsin i dr. Sunčevi zraci inaktiviraju virus u krvi za 5–9 sati, UV zraci za 60–90 minuta, dok X zraci slabije djeluju. Postoji antigenska srodnost sa drugim virusima roda, npr. sa virusom goveđe dijareje. Virus se izlučuje iz oboljelih svinja svim sekretima i ekskretima. Prenosi se direktno ili indirektno različitim putevima. Preboljele svinje siju virus mjesec dana i duže. U gravidnim krmačama prenosi se intrauterino na fetus. Pored domaćih svinja, virus se održava kod divljih svinja u prirodi. Virus se može prenosi i plućnim parazitima i askaridama. Virus je vrlo virulentan za svinje. Napada prvenstveno endotelne ćelije krvnih sudova i limfatično tkivo, čijim oštećenjem izaziva brojna krvarenja u unutrašnjim organima. Odatle putem krvi napada skoro sve unutrašnje organe. Oštećenje sluzokože digestivnog i respiratornog trakta praćeno je sekundarnim bakterijskim infekcijama. Svinjska kuga je vrlo kontagiozna zaraza svinja sa visokim procentom morbiditeta i letaliteta. Preboljele svinje stiču solidan imunitet. On se takođe postiže i vakcinacijom.



SLIKA 236 – Virus svinjske kuge (SEM)

(<http://www.ica.gov.co/getdoc/f7b56ae1-cf54-4af7-9563-50d6d3c479c0/Caracteristicas-del-Virus.aspx>)

VIRUS GOVEĐE DIJAREJE (BOLEST SLUZOKOŽE)

Virus bovine virusne dijareje (BVDV virus) pripada familiji *Flaviviridae* i rodu *Pestivirus*. Sadrži jednolančanu RNK. U krvi i limfnim čvorovima, na 4°C, održi se 6 mjeseci. Izlučuje se iz digestivnog trakta sekretima i ekskretima, a prenosi direktno ili indirektno. Brzo ga inaktiviraju hloroform, etar, formalin i tripsin. Za održavanje i prenošenje virusa u prirodi značajne su svinje. Preboljele životinje stiču imunitet koji traje 4–5 mjeseci.

Virusna dijareja je oboljenje mladih goveda (starih 3–18 mjeseci), koje se karakteriše erozivnim zapaljenjem sluzokože digestivnog trakta, dijarejom, sluzavo gnojnim iscjetkom iz nosa, groznicom i kaheksijom. Javljuju se i promjene na koži između papaka.

VIRUS ATIPIČNE KUGE PERADI

Svrstan je u familiju *Paramyxoviridae*, rod *Avulavirus*. Sadrži jednolančanu RNK. Izaziva *Newcastle* bolest, atipičnu kugu peradi (pseudokuga). To je akutna infektivna bolest, od koje prirodno obole kokoši, čurke, patke, guske, golubovi, fazani, jarebice, vrane, vrapci, laste i dr. Čovjek može da oboli od konjuktivitisa. Raširena je u cijelom svijetu. Dobila je ime po gradu Newcastle u Engleskoj, gdje se bolest pojavila kod živine 1927. g. U infektivnom materijalu, u živinarnicima, virus se održi ljeti 7 dana, a zimi 2 mjeseca i duže. Vlaga doprinosi dužem održavanju virusa. U soljenom, smrznutom mesu prezivi šest mjeseci, a u leševima živine oko mjesec dana, na temperaturi 15–25°C. Formalin, fenol i natrijum hidroksid, u koncentracijama uobičajenim za dezinfekciju, inaktiviraju ga tokom jednog časa. Izlučuje se sekretima iz organizma, a prenosi najčešće direktno – kapljicama tog sekreta. Međutim, brojni su i indirektni putevi širenja infekcije: hrana, voda, živinarnici, leševi, divlje ptice, ljudi itd. Jaja koja su snijele inficirane kokoši mogu da sadrže virus. Obično je najviše zahvaćen respiratorni epitel sa zapaljenskim promjenama različitog stepena i obilnom sekrecijom. Takođe se javljaju i karakteristična krvarenja na sluzokoži žljezdanog želuca živine (slika 237). Infekciju mogu prenosići i ektoparaziti, kao i neki endoparaziti. Mortalitet u perakutnom i akutnom toku bolesti može biti vrlo visok (i do 100%). Vakcinacijom se postiže solidan imunitet. Antitijela se pojavljuju petog do sedmog dana, a najviši titar dostižu poslije 2–3 nedjelje.



SLIKA 237 – Krvarenja na sluzokoži žljezdanog želuca kokoši
(<https://www.nadis.org.uk/disease-a-z/game-birds/newcastle-disease>)

VIRUS PAPILOMA GOVEČETA

Pripada familiji *Papovaviridae*, rod *Papillomavirus*. Ima dvolančanu DNK. Izaziva papilomatozu goveda, koja se karakteriše pojmom izraštaja (papiloma, bradavica), najčešće po glavi, oko očiju (slika 238), ali i na vratu, vimenu i drugim djelovima tijela. Virus se umnožava na mjestu prodora, gdje se javljaju papilomi. Otporan je na spoljne faktore. Ostaje aktivan više od 6 sati na 56°C , a na -70°C zadržava aktivnost preko 10 mjeseci.

Najčešće se prenosi preko povreda na koži, tetoviranjem, iglama, trljanjem bolesnih životinja o zdrave i dr. Inkubacija traje obično 3–4 mjeseca. Obole sva goveda, bez obzira na uzrast, ali je kod mlađih jedinki (ispod dvije godine) bolest mnogo češća. Opšte stanje životinje ne mora biti promijenjeno. Papilomi su veličine od 1 do 15 cm, a debljine oko 1–10 cm. Veliki broj papiloma može uzrokovati teže poremećaje i uginuće. Za suzbijanje goveđe papilomatoze mogu se primjenjivati vakcine.



SLIKA 238 – Papilomi na koži glave govečeta
(<http://www.infonet-biovision.org/default/ct/660/animaldiseases>)

VIRUS PTIČJEG GRIPA (AVIAN INFLUENZA)

Virus ptičjeg gripa – *influenza A virus* pripada familiji *Orthomyxoviridae* i rodu *Influenzavirus A*. Ima jednolančanu RNK. Izuzetno je genetički varijabilan i podložan mutacijama. Izaziva zaraznu bolest ptica – ptičji grip (influenca). Od domaće živine najosjetljivije su kokoške i čurke. Virus može da preživi u đubrиву на ниској температури најманje 3 мјесеца, у води на temperaturi od 22° C do 4 dana i на 0°C више од 30 dana. Zato je virus široko rasprostranjen u ptičjoj populaciji i u животној средини. Virus se uništava temperaturom od 56°C za 3 sata, а temperaturom od 60°C – за 30 minuta. Uništavaju ga dezinfekciona sredstva, kao što su formalin i jedinjenja joda.

Rezervoari influenza A virusa u prirodi su vodene ptice, naročito patke. Virus se umnožava u intestinalnom traktu ovih životinja i prenosi fekalno-oralnim putem. Osjetljivost ptica na infekciju i klinička slika su različite (slika 239). Dužina inkubacionog perioda je najviše 7 dana. Registrovane su blage i teške forme. Teške forme se odlikuju iznenadnim početkom, teškom kliničkom slikom i smrtnošću od oko 100%.



**SLIKA 239 – Cijanoza kreste i podbradnjaka kokoši
oboljele od ptičjeg gripa**

(<http://www.fao.org/docrep/003/t0756e/t0756e08.htm>)

PITANJE

1. Navedi neke virusne zarazne bolesti životinja, kao i viruse koji ih izazivaju.

PRIONI – UZROČNICI ZARAZNIH BOLESTI ŽIVOTINJA

Transmisivne spongiformne encefalopatije

Transmisivne (prenosive) spongiformne encefalopatije su neurodegenerativna oboljenja životinja i ljudi sa dugim periodom inkubacije, progresivnim hroničnim tokom bolesti i smrtnim ishodom. Tu spadaju: spongiformna encefalopatija goveda (*BSE*), spongiformna encefalopatija mačaka (*feline spongiform encephalopathy, FSE*), skrepi ovaca, transmisibilna encefalopatija nerca, kao i bolest propadanja kod jelena. Transmisivne spongiformne encefalopatije ljudi su: bolest *Kuru* (prenosi se kanibalizmom među ljudima) i Krojfeld-Jakobsova (CJD) bolest.

BOVINA SPONGIFORMNA ENCEFALOPATIJA – (BSE, *Bovine spongiform encephalopathy*, bolest ludih krava, kravlje ludilo)

To je smrtonosna, neurodegenerativna bolest goveda. Manifestuje se nervnim simptomima. Terapija je neuspješna i kod ljudi i kod životinja. BSE je prvi put dijagnostikovana u Velikoj Britaniji 1986. g., kada je došlo do pojave epizootije kod krava na farmama. Bolest se prenijela ishranom koštanim brašnom, dobijenim preradom oboljelih i uginulih goveda. Ime spongiformna encefalopatija (sunderasta bolest mozga) je dobila prema promjenama koje izaziva na mozgu. Bolest izazivaju prioni, izmijenjeni proteini. To su proteini koji su izmijenjeni uslijed mutacije gena odgovornog za njihovu sintezu. Abnormalni prion proteini (infektivni prioni) kada prodru u zdravu nervnu ćeliju katalizuju konverziju normalnog proteina u veliki broj molekula abnormalnog proteina. Usljed toga dolazi do nakupljanja velikih količina abnormalnih proteina u vidu vakuola u ćelijama mozga, što dovodi do njihove degeneracije i poremećaja funkcije. Zbog stvorenih vakuola, moždano tkivo dobija sunderast izgled. Normalan prion protein može biti lako uništen proteazama, dok je infektivni prion otporan. Izazivaju oboljenje kod različitih vrsta. Za razliku od drugih uzročnika bolesti, veoma su otporni na fizičke i hemijske faktore. Veoma su otporni na uobičajene metode koje degradiraju nukleinske kisjeline i proteine (visoka temperatura, UV zračenje, snažni enzimi i dr.). Preživljavaju sterilizaciju na 360°C , u trajanju od sat vremena. Denaturišu se tek pri temperaturi višoj od 1000°C , nisu osjetljivi na dezinficijense, ne sadrže genetski materijal (DNA, RNA). Početkom 80-tih godina prošlog vijeka identifikovao ih je američki biohemičar Stanley B. Prusiner, zbog čega je 1997. godine dobio Nobelovu nagradu.

Bolest ludih krava se prenosi i na druge životinjske vrste i čovjeka. Pored goveda, mogu da obole mačke, ovce, nerc i jeleni. Konzumiranjem mesa, naročito mozga zaraženih životinja, kod ljudi se javlja infektivni oblik Krojcfeld-Jakobsove bolesti. Na Novoj Gvineji se javljala bolest Kuru, zbog vjerskih obreda u toku kojih se jeo ljudski mozak. Inkubacioni period bolesti iznosi oko 2 do 8 godina. Kod životinja se javlja: abnormalno držanje tijela, nedostatak koordinacije, strah, nemir, nervozna, odbijanje muže, agresivno ponašanje, poteškoće prilikom ustajanja, visoko podizanje zadnjih nogu, smanjenje mlječnosti, gubitak težine itd. Životinje uginjavaju za dvije nedelje do šest mjeseci. Jedini način za kontrolu bolesti su preventivne mjere koje sprečavaju prenošenje uzročnika među životinjama i na ljudе. Najznačajnije mjere su zabrana upotrebe proteina prezivara u ishrani životinja, odbacivanje visokorizičnih tkiva goveda u klanicama i dr.

SKREPI (*SCRAPIE – PARAPLEGIA ENZOOTICA OVIS*)

Skrepia (od engl. riječi *scrape* – strugati, grebatи) je hronična infektivna bolest ovaca, koja se manifestuje svrabom i drugim nervnim simptomima, a završava letalno. Uzročnik je prion protein. Infekcija nastaje preko hrane, lezija na koži i sluzokoži. Gubitak vune je karakterističan znak skrepija (slika 240).



SLIKA 240 – Gubitak vune kod ovce oboljele od skrepija

(<https://www.nadis.org.uk/disease-a-z/sheep/why-are-my-sheep-itchy-and-how-should-i-treat-them>)

Zbog sličnosti sa uzročnikom BSE-a, potrebna je obazrivost u odnosu na prenošenje ove bolesti na druge životinje i ljude. Životinja progresivno slabi, zanosi zadnji dio tijela pri hodu, ima ukočen pogled, mljacka, glava i uši su joj oborene i na kraju nastaje paraliza zadnjih nogu. Terapija bolesti se ne sprovodi, nego se životinje neškodljivo uklanjaju.

PITANJE

1. Koje bolesti izazivaju prioni?

PARAZITI – UZROČNICI BOLESTI ŽIVOTINJA

Parazitologija je grana biologije koja se bavi izučavanjem morfoloških i fizioloških karakteristika parazita životinja i biljaka i odnosa koji postoje između njih. Ona se takođe bavi i pronalaženjem efikasnih mjera za borbu protiv parazita, njihovo suzbijanje i sprečavanje njihove pojave i širenja. Još starim Egipćanima bila je poznata pantljčara kao uzročnik oboljenja ljudi. Međutim, razvoj parazitologije potpuno je stagnirao u srednjem vijeku. Tek polovinom XIX vijeka je počeo njen razvoj otkrivanjem trihinele i drugih parazita.

Paraziti su živa bića koja cio svoj život, ili jedan dio svog života, žive na račun drugog živog bića. Riječ parazit potiče od grčke riječi *para* – pored i *sitos* – hrana. Biljke i životinje na čiji račun paraziti žive nazivaju se **domaćini**. Odnos između parazita i domaćina, kao biološka pojava, naziva se **parazitizam**. Paraziti su pravobitno živjeli slobodnim životom i postepeno su se prilagođavali novom načinu života, kada su počeli da žive u svom domaćinu ili na njemu. Izučavanjem parazita koji izazivaju oboljenja domaćih i divljih životinja bavi se veterinarska parazitologija. Zavisno od vrste parazita i njegove lokalizacije u tijelu domaćina, razlikuju se: ektoparaziti, koji žive na koži i vidljivoj sluzokoži i endoparaziti koji parazitiraju u unutrašnjim tjelesnim šupljinama domaćina, raznim organima, tkivima ili u krvi. Patogeno dejstvo parazita na organizam je različito i zavisi od virulencije parazita i otpornosti domaćina. Ono može biti:

- toksično – kada parazit luči toksine (otrove) koji štetno djeluju na domaćina;
- traumatično infektivno – kada paraziti, prolazeći kroz organizam domaćina, mogu da povrijede tkiva i tom prilikom unose razne patogene bakterije, koje dovode do sekundarne infekcije;
- mehaničko dejstvo – u toku svog razvoja paraziti mogu mehaničkim putem da začepe razne organe i njihove otvore;
- inflamatorno dejstvo – neki paraziti svojim prisustvom nadražuju tkiva i izazivaju njegovo zapaljenje.

Poslije neke preležane parazitarne bolesti u organizmu domaćina mogu ostati odbrambene materije – antitijela, koja se suprotstavljuju ponovnoj infekciji iste vrste.

Međutim, češće se pri oboljenjima izazvanim parazitima javlja stanje nepotpune zaštite, tzv. premunicija – infektivni imunitet.

Paraziti su uzročnici parazitskih bolesti ljudi i životinja. Prema svojim biološkim i morfološkim karakteristikama, svi paraziti su svrstani u sedam osnovnih tipova ili kola. Svaki tip se dijeli na klase, klase na redove, redovi na familije, familije na rodove, rodovi na vrste. U okviru ovih grupa, zbog specifičnosti pojedinih parazita, ukazala se potreba i za stvaranjem podgrupa (podtip, podklasa, podred, podfamilija, podrod), a u okviru vrste – podvrsta i varijetet.

U veterinarskoj parazitologiji izučavaju se sljedećih pet tipova parazita:

- *Protozoa* – jednoćelijske praživotinje,
- *Platyhelminthes* – pljosnati crvi,
- *Nematelminthes* – okrugli crvi,
- *Acanthocephala* – crvi sa rilom i
- *Arthropoda* – zglavkari.

Predstavnici tipova: *Platyhelminthes*, *Nematelminthes* i *Acanthocephala*, čine zajedničku grupu *Helminthes* – parazitski crvi (*vermes*). Nauka koja proučava parazitske crve naziva se helmintologija. Protozoe izučava protozoologija, arahnide (pauci, škorpije, grinje, krpelji) – arahnologija, insekte – entomologija.

U zavisnosti od potreba razvoja parazita i njihove prilagođenosti, u prirodi postoji više tipova domaćina. **Pravi domaćin** ili krajnji domaćin je onaj u kome se parazit razmnožava polnim putem ili u njemu dostiže svoj polno zreli – adultni oblik. **Prelazni domaćin** je onaj u kome se parazit razmnožava bespolnim putem ili se u njemu nalazi u larvenom obliku. Razvoj i širenje nekih vrsta parazita zahtijeva prisustvo pravog domaćina i jednog ili više prelaznih domaćina. Međutim, mnoge vrste parazita nemaju prelazne domaćine, jer su se u toku evolucije prilagodili da obave jedan dio razvoja u spoljnoj sredini, pod određenim uslovima. Pod uticajem spoljne sredine, mnogi paraziti su se prilagođavali većem broju vrsta pravih domaćina ili isključivo jednoj vrsti domaćina. Svaki parazit nosi dvojni naziv, od kojih prvi označava pripadnost rodu, a drugi određuje vrstu. U nomenklaturi parazitskih bolesti uobičajeno je da se naziv koji označava rod parazita koristi za obrazovanje naziva bolesti. Ovaj naziv se može izraziti latinskim ili našim jezikom. Na primjer, oboljenje prouzrokovano velikim metiljem *Fasciola hepatica* nosi naziv *fasciolosis* ili fascioloza, oboljenje prouzrokovano kokcidijama – *coccidiosis* ili kokcidioza itd.

Protozoze su bolesti prouzrokovane protozoama, helmintoze – bolesti prouzrokovane helmintima, a artropodoze su bolesti prouzrokovane artropodama. Ovakva podjela ima mnogo prednosti prvenstveno zato što sve vrste parazita iz jedne grupe imaju slične biološke i morfološke karakteristike, koje su presudne za njihovo patološko djelovanje i tok bolesti koju prouzrokuju. Prema tome, za svaku bolest iz jedne grupe se mogu unaprijed znati izvjesne opšte karakteristike koje daju obilježje cijeloj grupi.

Paraziti prouzrokuju različita oštećenja tkiva i podstiču organizam domaćina na stvaranje odbrane protiv njih. Faktori od kojih zavisi patogenost parazita su: stepen patogenosti parazita, broj parazita, vidovi patogenog djelovanja parazita (mehaničko, toksično, oduzimanje hrane od domaćina, uticaj na metabolizam domaćina). Uginuća su češća kod protozoarnih bolesti, jer je kod njih tok obično akutan (babezioza, kokcidijska, histomonijaza). Međutim, nekad i kod pojedinih helmintoza tok može biti akutan, kada ugine veoma veliki broj životinja (npr. metiljavost i dr.). Tokom pojedinih godina odbacuju se ogromne količine konfiskata (jetre, pluća i dr.) zbog metiljavosti, ehinokokoze i plućne strongilidoze.

DIJAGNOSTIKA PARAZITSKIH BOLESTI

Da bi se sprovelo suzbijanje pojedinih parazitskih bolesti i liječenje oboljelih životinja, potrebno je utvrditi uzročnike bolesti, tj. postaviti tačnu etiološku dijagnozu. Direktne dijagnostičke metode imaju veliki praktični značaj u dijagnostici parazitskih bolesti, jer se zasnivaju na nalazu samih uzročnika, tj. parazita u bilo kom njihovom razvojnom obliku. Zavisno od materijala u kome se paraziti ili njihovi razvojni oblici istražuju, direktne metode se dijele na: **koprološke** (pregled izmeta), **hematološke** (pregled krvi), **urološke** (pregled mokraće) i **dermatološke** (pregled kože). Koprološke metode se najviše koriste za dijagnostiku helmintoza, jer je najveći broj helminata lokalizovan u digestivnom kanalu i organima koji sa njim komuniciraju, tako da se izmetom životinja eliminišu njihova jaja ili larvice u spoljnu sredinu. Ove metode se koriste i za otkrivanje protozoa i artropoda lokalizovanih u istim organima. Metode hematološke dijagnostike koriste se za otkrivanje protozoa ili mikrofilarija koje su lokalizovane ili u krvnim ćelijama ili u krvnoj plazmi. Dermatološkim dijagnostičkim metodama otkrivaju se ektoparaziti.

NAJZNAČAJNIJI PARAZITI KOJI IZAZIVAJU OBOLJENJA ŽIVOTINJA

Najznačajnije protozoe koje izazivaju oboljenja životinja su: babezije, kokcidije, toksoplazma, lajšmanija i nozema. Od pljosnatih crva najznačajniji su: trematode (veliki i mali metilj i paramfistomum), cestode (*Echinococcus granulosus*, *Taenia multiceps*, *Taenia saginata*, *Taenia solium*, *Taenia hydatigena*), valjkasti crvi (*Ascaris suum*, *Parascaris equorum*, *Toxocara* – syn. *Neoascaris* – *vitulorum*, *Trichinella spiralis*, *Strongylus vulgaris*, *Toxocara canis* i *Ascaridia galli*). Od artropoda najznačajniji su: *Oestrus ovis*, *Gasterophilus intestinalis*, *Gasterophilus inermis*, *Hypoderma bovis*, *Hypoderma lineatum*, *Sarcoptes*, *Notoedres*, *Psoroptes*, *Otodectes*, *Chorioptes*, *Cnemidocoptes*, kao i *Demodex canis*.

OSNOVNE KARAKTERISTIKE PARAZITSKIH PROTOZOA

Parazitske protozoe su mikroskopske veličine, prvenstveno su endoparaziti, tj. lokalizovane su u tkivima različitih organa domaćina. Jedne parazitiraju samo na jednom domaćinu, dok su za druge potrebna dva domaćina (pravi i prelazni). Kod tipičnih protozoa razlikuje se **vegetativni oblik, oblik spore i ciste**. Pod vegetativnim oblikom podrazumijeva se onaj oblik koji se aktivno kreće, hrani i razmnožava. U obliku ciste protozoe se ne kreću i ne uzimaju hranu, jer su obavijene manje ili više čvrstom opnom. Ciste ili spore nastaju iz vegetativnog oblika i služe uglavnom za održavanje vrste. Veličina protozoa dosta varira i kreće se od 2 do nekoliko stotina mikrona. Kod nekih vrsta vegetativni oblici imaju stalan oblik, dok se kod drugih taj oblik mijenja, zavisno od toga da li se parazit nalazi u stanju mirovanja ili se kreće. Vegetativne ćelije protozoa se sastoje od jednog ili više jedara i citoplazme. Dok je kod jednih citoplazma jedinstvena, kod drugih je ona podijeljena na ekto i endoplazmu. Kod više vrsta protozoa ektoplazma služi za kretanje, pribavljanje hrane, ekskreciju, disanje i zaštitu. Vegetativna ćelija protozoa može da bude bez citoplazmine membrane (kod ameba), ili je obavijena membranom koja se naziva pelikula. Neke protozoe, pored pelikule posjeduju i ljuštu. Većina vrsta protozoa hrani se osmozom. Neke se hrane i čvrstom hranom tako što ispuštaju citoplazmatične produžetke i njima unose čestice hrane. Oko čestica formira se hranljiva vakuola. Osim hranljivih, postoje i pulzatorne – ekskretorne vakuole. Najčešće se razmnožavaju diobom na dvoje. Najprije se podijeli jedro, a zatim citoplazma. Sem proste, postoji i multipla dioba. Multiplom diobom se najčešće razmnožavaju kada nastupe nepovoljni uslovi života. U ovom slučaju, jedro se dijeli na više djelova i svaki dio odlazi u novu ćeliju. Tipične sporozoe se dijele na dva načina: šizogonično, tj. bespolnim i sporogonično, odnosno polnim načinom. Ova dva načina se međusobno smjenjuju, tako da šizogoničnom

razvoju prethodi sporogonično i obrnuto. U šizogoničnom razmnožavanju razlikuju se **šizonti i merozoiti**, a u sporogoničnom – **makrogametociti, mikrogametociti, mikrogameti, makrogameti, zigot, oociste i sporozoiti**. Prodiranjem sporozoita u ćeliju nastaje šizont. Postankom šizonta počinje šizogonija (multipla dioba). Jedro šizonta se dijeli na više manjih djelova koji oko sebe okupljaju citoplazmu i nastaju merozoiti, a od ovih ponovo šizonti. Pošto se ovaj ciklus ponovi više puta i pošto se iscrpe sve snage razvoja, javljaju se gametociti. Tog trenutka počinje gametogenija. Gametociti se dijele na mikrogametocite i makrogametocite. Mikrogametociti se međusobno razlikuju. To su polne ćelije. Od jednog mikrogametocita formira se više mikrogameta, a od jednog makrogametocita formira se samo jedan makrogamet. Spajanjem mikrogameta sa makrogametom nastaje zigot. Zigot je različitog oblika i kad dobije opnu naziva se oocista. Oocista počinje da se dijeli na sporoblaste, čiji broj može da bude različit (4 kod ajmerina i 2 kod izosporina). Oko sporoblasta formira se opna, pri čemu nastaju sporociste u kojima nastaju sporozoiti (po 2 kod ajmerina i 4 kod izosporina).

Putevi infekcije protozoama mogu biti različiti. Izvjesne vrste protozoa inficiraju životinju **unošenjem hrane ili vode** u kojima se nalaze infektivni oblici parazita. Neke vrste protozoa inficiraju zdravu životinju **ubodom hematofagnog artropoda**, koji je već ranije sisao krv bolesne životinje. Vrlo važna osobina protozoa, koja daje karakter cijelom toku bolesti jeste njihova **moć razmnožavanja** u prijemljivom do-maćinu. Unijeti infektivni oblici jedne vrste protozoa razmnožavaju se u organizmu velikom brzinom, bilo prostom diobom, bilo šizogonijom. Na taj način se u organizmu za kratko vrijeme obrazuje ogroman broj parazita, što može imati za posljedicu brzu pojavu bolesti. Ako je napadnuti organizam neotporan, dolazi do veoma brzog razmnožavanja parazita i ispoljavanja bolesti. Tok najvećeg broja protazoarnih bolesti je **akutan** i praćen je burnim simptomima. Akutni tok bolesti se u velikom centru završava uginućem životinje. Mlade životinje su prijemljivije na infekciju od starijih. Međutim, postoje bolesti prema kojima su podjednako prijemljive i mlade i starije životinje.

RAZDIO SARCOMASTIGOPHORA

PODRAZDIO SARCODINA (RHIZOPODA)

Predstavnici ove klase se u adultnom stanju kreću pomoću pseudopodija. To su najčešće slobodnoživeći organizmi, a mali broj su paraziti. Uglavnom naseljavaju morske ekosisteme, mada se nerijetko srijeću i u slatkim vodama. Najpoznatiji predstavnici ove klase su amebe.

PODRAZDIO FLAGELLATA – MASTIGOPHORA

Familija Monadidae

Histomonas meleagridis ima 1–6 bičića. Parazitira na sluzokoži debelog crijeva živine. Putem krvi može da dospije u jetru i da izazove procese slične apsesu. Promjene se vide na površini u vidu ispupčenih žućkastih polja. Ova bolest se naziva histomonijaza. Karakterističan simptom je jako modra glava kod živine.

Familija Trypanosomidae

Ove protozoe imaju samo jedan bič. U svom razvoju imaju jedan specijalni razvojni oblik poznat kao „Lajšmanijevo tjelašće“. Ovo tjelašće je okruglog oblika i nema bič.

Rod Leishmania

Leishmania donovani uzrokuje kala-azar, visceralnu lajšmaniozu kod čovjeka, pasa, rjeđe kod mačke. Najčešće obole djeca. Prenosioci su *Phlebotominae* (nevidi). Kada flebotomus sisa krv oboljele životinje ili čovjeka, sa krvlju unosi lajšmanijevo tjelašće, od koga se u njihovom digestivnom traktu razvija *leptomonas* koji odlazi u pljuvačnu žljezdu flebotomusa. Prilikom uboda, flebotomus ubacuje u krv zdravog čovjeka ili životinje i *leptomonas*. Oni bivaju fagocitovani od okolnih makrofaga u kojima se preobražavaju u lajšmanijeva tjelašca. Iz tih ćelija mogu da dospiju u krv, a odatle u slezinu, jetru, koštanu srž, gdje se intenzivno razmnožavaju, a kao posljedica toga nastaje hipertrofija tih organa.

Leishmania tropica izaziva kožnu lajšmaniozu. Nastanjuje se u potkožnom tkivu otkrivenih djelova tijela. Vrste ovog roda izazivaju lajšmaniozu kod ljudi i životinja.

Rod Trypanosoma

Najčešće su vretenastog ili srpastog oblika. Veličina im se kreće od 15 do 90 mikrona.

Trypanosoma equiperdum je uzročnik bolesti poznate kao „Durina“, koja se manifestuje otokom polnih organa. Prenosi se direktnim putem preko polnih organa.

Familija Trichomonadidae

Rod Trichomonas

Ima 3–5 slobodnih bičića. Parazitiraju u ustima, crijevima, urogenitalnim organima, voljci. Jedan od najznačajnijih predstavnika je *Trichomonas foetus*. Parazitira u uterusu goveda. Prenosi se parenjem. Razmnožavaju se u vagini i uterusu, pri čemu dovode do uginuća ploda. Bolest se naziva trihomonijaza.

RAZDIO CNIDOSPORA

Knidosporidije su paraziti hladnokrvnih kičmenjaka, zglavkara i vodenih crva. Raspoređene su u dva reda: *Myxosporidia* i *Actinomyxidia*.

RAZDIO APICOMPLEXA (SPOROZOA)

KLASA CONOIDASIDA

Kod sporozoa infektivni oblik je sporozoit. Ova klasa se dijeli u dvije podklase: podklasa *Coccidiásina* (*Coccidia*) i podklasa *Gregarinasina* (*Gregarinia*).

PODKLASA COCCIDIÁSINA

Podklasa *Coccidiásina* (*Coccidia*) se dijeli u četiri reda: *Agamococcidiórida*, *Eucoccidiórida*, *Ixorheorída* i *Protococcidiórida*. Red *Eucoccidiórida* se dijeli u dva podreda: *Adeleorína* (uključujući i *Haemogregarina* i *Hepatozoon*) i *Eimeriorína* (uključujući *Toxoplasma* i *Sarcocystis*). Podred *Eimeriorína* se dijeli na više familija, od kojih je značajna samo familija *Eimeridae*. Familija *Eimeridae* ima više rodova (rodovi *Eimeria*, *Isospora* i dr.). Vrsta koja pripada rodu *Eimeria* – *Eimeria tenella* je veoma opasna za mlade piliće. Parazitira u epitelnim ćelijama cekuma (slijepog crijeva) kod pilića i izaziva cekalnu kokcidiozu. Cekumi su crni i krvavi, veći i malo naduveni. *Eimeria necatrix* živi u crijevu mlađih pilića. Oboljeli organizmi su jako iznureni, imaju proliv. *Eimeria acervulina* parazitira u tankom crijevu kokoši, na kojima pravi karakteristična udubljenja.

KLASA ACONOIDASIDA

Red Haemosporida

Red *Haemosporida* obuhvata četiri familije: *Garniidae*, *Haemoproteidae*, *Leucocytozidae*, *Plasmodiidae*.

Familija Plasmodiidae

U familiju *Plasmodiidae* su svrstani uzročnici malarije čovjeka koji parazitiraju u eritrocitima. Uzročnici su: *Plasmodium vivax* i *Plasmodium malariae*.

Red Piroplasmida

Familija Babesidae

Babesidae se razvijaju samo u eritrocitima, kao šizonti i gametociti, koji mogu biti nepravilnog (anaplazmodnog oblika), prstenastog, ameboidnog ili kruškolikog oblika (slika 241).

Rod Babesia

Kao i kod hemosporida, jedan dio razvića babezida se odvija u pravom domaćinu, a drugi u prelaznom domaćinu, krpelju. Prenosioci ovog parazita su krpelji iz roda *Boophilus* (*Margaropus*) i *Rhipicephalus*.



SLIKA 241 – *Babesia canis* u eritrocitima psa (bojenje po Gimzi, 1000x)
(<http://vetemergency.ca/veterinarians/case-studies/>)

Familija Theileridae

Rod Theileria

Šizonti i gametociti roda *Theileridae* su štapićastog ili prstenastog oblika i razvijaju se u ćelijama limfnog tkiva i retikuloendoteljnog sistema.

Red Eucoccidiorida

Familija Sarcocystidae

Podfamilija Sarcocystinae

Rod Sarcocystis

Sarcocystis miesheriana parazitira u jeziku, srcu, skeletnim mišićima, a najčešće u trbušnim mišićima i dijafragmi kod svinja.

Sarcocystis tenella parazitira u muskulaturi jezika, ždrijela, grkljana, jednjaka, vrata, srca i skeletnim mišićima kod ovaca. Stvaraju tkivne ciste mikroskopskih veličina najčešće u mišićima, ponekad su vidljive golim okom – 1 cm (jednjak u ovce). Sporulirana oocista morfološki je vrlo slična cisti koju stvara *Toxoplasma gondii*.

Podfamilija Toxoplasmatinae

Rod Toxoplasma

Toxoplasma gondii – ima vegetativne oblike koji su polumjesečastog, srpastog oblika sa jedrom i granulisanom citoplazmom. Parazit je čovjeka, ovce, svinje, psa, mačke, kunića, zeca, drugih glodara, goluba, kokošiju i drugih ptica. Parazitira u gotovo svim tkivima, a naročito ima afinitet za ćelije retikuloendoteljnog sistema i mozak. U ćelijama se nalaze pojedinačni ili parni paraziti, ili skoncentrisani u većem broju u tzv. pseudocistama. Kod gravidne žene izaziva poremećaje na plodu – kalcifikacije na mozgu, uvećanja glave i dr.

HELMINTHES – VERMES (CRVI)

Najveći broj parazitskih bolesti u našoj zemlji je izazvano helmintima. Pojedine vrste helminata su dugačke i po nekoliko metara (neke vrste cestoda), dok druge vrste jedva dostižu dužinu nekoliko milimetara (neke vrste nematoda i trematoda). Naj-

češće su **endoparaziti**. Najveći broj vrsta helminata inficiraju životinje **unošenjem kontaminirane hrane i vode**, ali je moguća infekcija i preko kože – **artropodama**. Inficirane životinje eliminišu iz organizma **jaja ili larvice helminata**, koji u tom stadijumu još nisu sposobni da neposredno inficiraju prijemljive domaćine. Da bi eliminisani oblici parazita postali infektivni za prijemljive životinje, moraju da obave jedan dio svoga razvoja slobodno u spoljnoj sredini ili u jednom ili dva prelazna domaćina. Ovaj period može trajati od nekoliko dana do nekoliko mjeseci. Međutim, nekad tok može biti akutan, kada ugine veoma veliki broj životinja (npr. metiljavost i dr.). Pored toga, odbacuju se ogromne količine konfiskata (jetre, pluća i dr.) zbog metiljavosti, ehinokokoze i plućne strongilidoze.

Helminti su višećelijska bića kod kojih je došlo do diferenciranja pojedinih organa. Imaju bilateralnu simetriju i tjelesni omotač – **kutikulu**. Kutikula može biti veoma čvrsta i naoružana raznim tvorevinama. Ispod kutikule se nalazi **vezivnotkivni sloj**, a ispod njega **mišićni sloj**. Mišićni sloj se sastoji iz uzdužnih i cirkularnih mišićnih slojeva, a mogu biti i kosi – različito raspoređeni. Unutra se nalaze organi. Kod jednih je unutrašnjost tijela ispunjena vezivnim tkivom, dok kod drugih postoji tjelesna šupljina – celom.

Neki nemaju digestivne organe, jer se hrane putem osmoze, preko porozne kutikule. To su većinom paraziti tankog crijeva, jer ono za njih predstavlja najbolju sredinu. Vrlo često su hermafroditni, tj. jedinka sadrži i muške i ženske polne organe. Kod crva postoje začeci nervnog sistema koji je u obliku prstena. Nemaju krvotok. Veličina tijela helminata je različita, kreće se od 2 mm do 12 m. Hrane se različito. One vrste koje nemaju digestivni trakt apsorbuju hranljive materije **cijelom površinom tijela**, dok kod onih kod kojih postoji digestivni trakt hrana dospijeva u njihovo crijevo **kroz usni otvor**, a nesvareni dio izlučuje se iz organizma parazita kroz analni otvor, tj. kloaku ili preko usta, ukoliko analni otvor ne postoji.

KLASIFIKACIJA HELMINATA – CRVA

Helminti su svrstani u dva kola (tipa): kolo *Platyhelminthes* i kolo *Nemathelminthes*.

Kolo ***Platyhelminthes*** su pljosnati crvi; tijelo im je spljošteno, tjelesna duplja ne postoji, uglavnom su hermafroditni, što znači da imaju i muške i ženske polne organe. Ovom kolu pripadaju tri klase: *Monogenea*, *Trematoda* i *Cestoda*.

Kolo ***Nemathelminthes*** su valjkasti crvi, tijelo im je valjkasto, postoji tjelesna duplja, polovi su odvojeni, seksualni dimorfizam je jasno izražen.

KOLO PLATYHELMINTHES

KLASA TREMATODA

Oko usnih otvora imaju pijavke građene od mišićnih kružnih vlakana; trbušna pijavka služi za pričvršćivanje za podlogu. Kutikula može biti glatka ili ima bodlje, kuke i sl. Ima digestivne i genitalne organe. Hermafroditni su. Jaja nastala tokom oplodnje dospijevaju u lumen crijeva organizma u kome trematode parazitiraju. Jaja imaju dobro izraženu opnu. Larveno razviće se odvija u jednom ili dva prelazna domaćina, koji su najčešće vodeni ili suvozemni pužići. Iz jajeta koje je izmetom dospjelo u vodu, poslije izvjesnog vremena izlazi mala larva koja se naziva **miracidijum**. Po izlasku iz jajeta, miracidijum se živo kreće kroz vodu pomoću treplji koje pokrivaju njegovo tijelo. Ako za kratko vrijeme ne nađe na prelaznog domaćina, on ugine. Međutim, čim prodre u potkožno tkivo prelaznog domaćina **pužića**, miracidijum izrasta u novi larveni oblik – **sporocistu**. Ovaj oblik ima vrećast izgled i može da se podijeli na sporociste – kćerke. U sporocistama nastaju novi larveni oblici poznati pod imenom **redije**. U svakoj sporocisti nastaje više redija. Iz redija se razvijaju **cerkarije**, posljednji larveni oblik u prelaznom domaćinu. Dolaskom u vodu, cerkarije gube repić, učaure se i taj oblik se naziva **metacerkarija**. Pravi domaćin se zarazi kada vodom ili hranom unese metacerkarije u svoj digestivni trakt.

Red Prostomata

Nadfamilija Fascioloidae

Familija Fasciolidae

Rod Fasciola

Fasciola hepatica – veliki metilj

Izaziva oboljenje domaćih životinja – fasciolozu. Najčešće obole ovce, goveda, koze, rjede svinje, kopitarci, kunići i divlji papkari i zečevi. Odrasli paraziti su listolikog oblika, sivkastozelene boje, posjeduju usnu i trbušnu pijavku, dugi 2–3 cm i široki 1,5 cm (slika 242). Mlađi primjerici su žućkastosmeđe boje. Metilji žive u žučnim kanalima i žučnom mjehuru pravog domaćina. Djelovanje *F. hepatica* na organizam domaćina je mehaničko i toksično. Na ovaj način veliki metilj oštećuje tkivo i stvara uslove za razmnožavanje patogenih bakterija. Odrasli paraziti svojim hitinskim ljuspicama na kutikuli i pijavkama traumatizuju i lediraju sluznicu žučnih kanala izazivajući zapaljenje. Hraneći se krvlju izazivaju anemiju. Preko žučnog kanala jaja parazita dospijevaju u crijeva odakle se izmetom eliminišu u spoljnu sredinu.

U spoljnoj sredini razvoj parazita se dijelom odvija slobodno (obrazovanje miracidijuma), dijelom u prelaznom domaćinu – slatkovodnom pužiću (sporociste, redije, cerkarije). Iz pužića se oslobađaju cerkarije, koje se gubitkom repića i učauravanjem preobražavaju u metacerkarije, tj. infektivne oblike parazita za domaće životinje i čovjeka. Cio razvoj parazita od jajeta do jajeta traje oko 150 dana.



SLIKA 242 – *Fasciola hepatica* – odrasli parazit
(<http://www.k-state.edu/parasitology/625tutorials/Hepatica.html>)

Familija *Dicrocoeliidae*

Rod Dicrocoelium

Dicrocoelium dendriticum – mali metilj

Dicrocoelium dendriticum je trematoda kopljastog oblika, posjeduje usnu i trbušnu pijavku, dužine je 5–12 mm i širine 1,5–2,5 mm. Parazitira u manjim i većim žučnim kanalima i žučnoj kesi, gdje polaže jaja koja dospijevaju u crijeva i preko izmeta životinje eliminišu se u spoljnu sredinu. Za dalji razvoj parazita potrebna su dva prelazna domaćina (suvozemni pužići iz rodova *Zebrina* i *Helicella* i mravi iz roda *Formica*). Pravi domaćin se inficira kada sa hranom pojede mrave u kojima se nalaze obrazovane metacerkarije. Potpuni razvoj parazita od jajeta do jajeta traje 6–10 mjeseci. Jaja malog metilja su veoma otporna u spoljnoj sredini.

Nadfamilija Paramphistomoidea

Familija *Paramphistomoidae*

Rod Paramphistomum

Paramphistomum cervi

Parazitira u buragu, kapuri i sirištu prezivara, rjeđe u jednjaku i žučnim kanalima. Tijelo odraslih parazita je debelo i svijetlocrvene boje. Dug je 5–15 mm, a širok 2–3 mm. Jaja su ovalnog oblika, sa malim poklopčićem na užem polu. Larveni razvoj sličan je razvoju *F. hepatica*. Odvija se kod barskih pužića iz roda *Bulinus*. Životinje se inficiraju metacerkarijama unesenim hranom i vodom. Mladi oblici parazita prvo nasejavaju sluznicu sirišta i duodenuma. Poslije 28–36 dana migriraju kroz samu sluznicu do buraga i kapure, gdje se definitivno nasejavaju. Kod akutnog toka bolesti javlja se proliv i naglo mršavljenje, povećana tjelesna temperatura, bljedilo sluzokože, atonija predželudaca, smanjenje mliječnosti.

KLASA CESTODA

Obuhvata **pljosnate crve** čije je tijelo podijeljeno u **člančice** (slike 243 i 244). Njihova veličina se kreće od 5 mm do 12 m. Svaki od ovih člančića predstavlja jednu cjelinu. Prvi dio nazivamo **skoleks** (glava), koji može biti različite veličine. Skoleks može da bude loptast, trouglast i na njemu se nalaze organi za pričvršćivanje. Iza skoleksa nastavlja se vrat i tijelo (**strobila**). Na skoleksu se nalaze **pijavke**, koje mogu biti izdužene ili cirkularne, sa mišićnim vlaknima koje služe za pričvršćivanje. Kod nekih pan-

tljičara pijavke su naoružane **trnićima** ili kukicama poredanim u više vijenaca. Kod nekih cestoda pijavke su u obliku uzdužnih jamica ili pukotina i nazivaju se **botridijama**. Na prednjem dijelu skoleksa može se naći i tvorevina – **rostrum**, koji može biti različitog oblika: okrugao, u obliku kvadrata i sl. Rostrum je naoružan trnićima, odnosno kukicama koje su hitinske i tamnosmeđe boje. Broj kukica na rostrumu može biti 8–10, pa i nekoliko stotina. Od kaudalne ivice vrata formiraju se **proglotide – člančići**. To je za njih germinativna zona. U toku 24 časa proglotide mogu da formiraju tijelo dužine 8–10 cm. Trup – strobila sastoji se iz proglotida. Proglotis – člančić predstavlja jednu cjelinu. Digestivne organe nemaju, ali posjeduju muške i ženske polne organe (hermafrodit). Ekskretorni organi izlučuju metabolite kroz *foramen caudale*. Neki od metabolita izazivaju hemolizu i druge teške posljedice po domaćina. Neki djeluju na centralni nervni sistem, a neki su toksični.

Jaje ima tri opne, zadnja se naziva embriofora. Kada embrionirano jaje dospije u crijevo, opna jajeta se razlaže i embrion prolazi kroz zid crijeva. Tada se razvija larveni oblik koji je infektivan. Larveni oblik ima skoleks sa pijavicama. Postoje dva tipa larvenih oblika cestoda: **vezikularni i avezikularni** (pseudocistični tip). Kod vezikularnog tipa larvi *Echinococcus polymorphus* nalazi se tečnost koja je pod pritiskom. Larve ovog tipa imaju jaku opnu – kutikulu. Sa unutrašnje strane kutikule nalazi se fina membrana – *membrana germinativa*, koja stvara sekundarne vezikule – *vesiculae proligerae*. Sa unutrašnje strane ovih vezikula formiraju se skoleksi. Oni su veoma mali, dok je cista velika. U 1 ml hidatidnog pijeska nalazi se 400.000 skoleksa. Kod larvenog oblika *multiceps* postoji *membrana germinativa* od koje se formira više skoleksa.

Kod avezikularnih larvenih oblika unutar omotača se nalazi larva bez prisustva tečnosti.

Pas je stalni domaćin za veliki broj cestoda, kao što su *Echinococcus granulosus* (slika 243), *Taenia hydatigena*, *Taenia multiceps* i dr. Čovjek je stalni domaćin za cestode, kao što su *T. saginata* (goveda pantljičara) i *T. solium* (svinjska pantljičara) (slika 244).



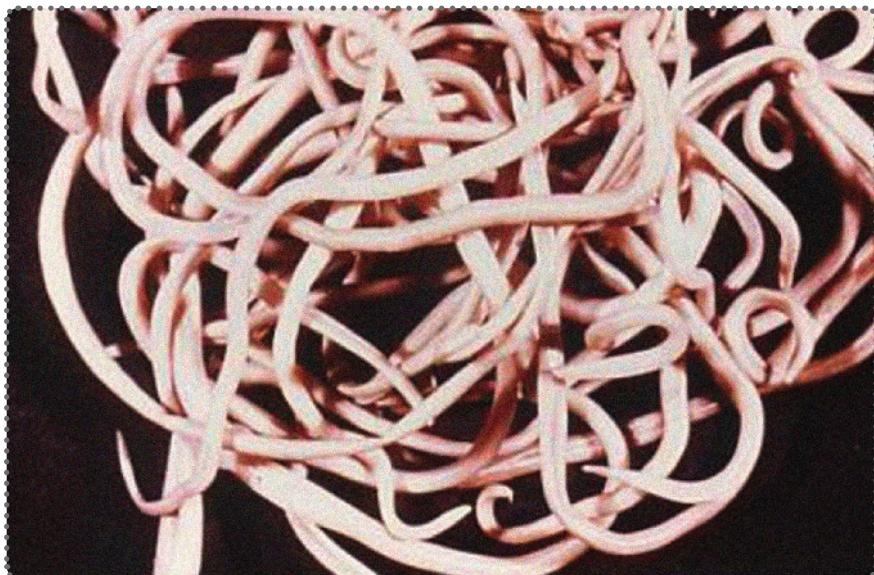
SLIKA 243 – Cestoda *Echinococcus granulosus* – odrasli crv
(<http://www.k-state.edu/parasitology/625tutorials/Tapeworm03.html>)



SLIKA 244 – Cestoda *Taenia solium* – odrasli crv
(<http://m.exam-10.com/medicina/26002/index.html>)

KOLO NEMATHELMINTHES – VALJKASTI CRVI

Valjkasti crvi su paraziti cilindričnog i izduženog oblika, različite veličine (slika 245).



SLIKA 245 – *Nematoda Ascaris suum* – odrasli crvi
(http://cal.vet.upenn.edu/projects/parasit06/paraav/labs/lab_4.htm)

Posjeduju **tjelesnu šupljinu** (celom) koja je ispunjena tečnošću, u kojoj plivaju **digestivni trakt i organi za reprodukciju**. Kod pojedinih vrsta **polni dimorfizam** je jasno izražen. Mogu da narastu i do 1 m. Spoljašnji omotač – **kutikula** kod nekih je naročito debeo i može da bude gladak ili izbrazdan.

Kolo Nematelmintes je podijeljeno u 3 klase, pri čemu su značajne za parazitologiju klasa *Nematoda* (digestivni trakt je potpun) i klasa *Acanthocephala* (digestivni trakt ne postoji). Svi su oni valjkasti crvi. Digestivni trakt počinje usnim otvorom, na koji se nastavlja farinks, jednjak i crijevo. Ženke mogu biti veće od mužjaka i do 10 puta. Mužjaci kod pojedinih vrsta imaju spikule, koje prilikom kopulacije ulaze u ženske polne organe. U početnom dijelu uterusa obavlja se oplodnja. Ženke mogu biti oviparne, ovoviviparne i viviparne. **Oviparne** polažu jaja koja su neizbrazdana – neembrionirana. **Ovoviviparne** polažu embrionirana jaja, a **viviparne** polažu žive larve. Jaja mogu da imaju dvije ili tri opne. Kada jaje dospije u spoljnu sredinu gdje ima dovoljno uslova za razvoj (temperatura i vлага), započinje embrioniranje, tj. brazdanje. Za nekoliko dana završava se embrioniranje i iz jajeta izlazi **larvica**, koja

ne može da izađe iz larvine opne. Potrebno je da pravi domaćin unese embrionirana jaja, da bi se u njegovom digestivnom traktu pod uticajem želudačnih sokova rastvorila opna. Ima nematoda kod kojih su larve odmah infektivne po izlasku iz opne. Kod drugih, larvice moraju da budu izvjesno vrijeme u spoljnoj sredini da bi se presvukle i tek tada postaju infektivne. Da bi larvice nastavile svoj život, potrebno je da imaju dovoljno vlage. Obično se larvice presvlače dva puta. One se golim okom ne mogu vidjeti. Kod njih postoji **usni otvor**.

Prema broju domaćina u kojima parazitiraju, parazite dijelimo na: monoksene (*monoxenes*), koji parazitiraju samo u jednoj vrsti domaćina i heteroksene (*heteroxenes*), koji žive na račun dva ili više domaćina, pri čemu se razlikuju dva tipa domaćina: stalni (pravi, definitivni), u kome parazitiraju odrasle jedinke i prelazni – u kome žive larve. Najveći broj helmintoza protiče u dugotrajnom **hroničnom** i subkliničkom obliku. Štete od ovakvog oblika parazitizma su ogromne, jer je produktivnost životinja smanjena i traje sve dok su paraziti prisutni. Svaka helmintoza može preći pod određenim uslovima iz subkliničkog u klinički oblik bolesti.

BOLESTI PROUZROKOVANE ARTROPODAMA

Parazitske bolesti prouzrokovane artropodama su prvenstveno **ektoparazitoze**, jer artropode uglavnom parazitiraju u koži životinja ili na njenoj površini. Dok su pojedine vrste artropoda jedva vidljive golim okom, ili ih moramo posmatrati pod lupom, veličina drugih dostiže 2–3 cm i više. Najveći broj vrsta artropoda su povremeni paraziti i napadaju domaćina samo povremeno – kada od njega uzimaju hranu. Ostalo vrijeme provode neparazitski, u spoljnoj sredini.

Artropodi (zglavkari, slike 246 i 247) imaju bilateralnu simetriju, kod nekih je tijelo **segmentirano**, a kod svih su noge **člankovite**. Spoljašnji tjelesni omotač sastoји se od jednog hitinskog sloja. Usni organi sastoje se iz više djelova i obično su podešeni za: drobljenje, sisanje, srkanje, bodenje i dr. Od čula imaju: oči, koje mogu biti proste, složene, zakržljale, a kod pojedinih vrsta i potpuno odsutne, organe koji imaju funkciju čula mirisa i taktilne organe (antene) za registrovanje dodira.

Artropodi izazivaju direktne ili indirektne štete životnjama i ljudima. Direktne izazivaju kada parazitiraju na organizmima, a indirektne – kada služe kao vektori (prenosioci, prelazni domaćini) raznih zoonoza i parazitoza. Po lokaciji ih dijelimo na **ektoparazite** (koje srijećemo na koži) i **endoparazite** (u tjelesnim dupljama ili organima). Predstavnici kola *Artropoda* raspoređeni su u četiri podkola: *Trilobitomorpha* (izumrli vodeni zglavkari), *Chelicerata* (paukoliki zglavkari), *Crustacea* (rakovi) i *Uniramia* (stonoge i insekti). Insekti su najmnogobrojnija grupa

životinja. Za animalnu proizvodnju su posebno značajni razdjeli *Chelicerata* (klasa *Acari* – *Acarina*, grinje i krpelji) i *Uniramia* (podrazdio *Hexapoda*, klasa *Insecta* – insekti). Krpelji i insekti – komarci, vaši, buve su značajni vektori – prenosnici zaraznih bolesti na životinje i ljude.



SLIKA 246 – *Ixodes ricinus* – krpelj
(http://cal.vet.upenn.edu/projects/parasit06/paraav/labs/lab_4.htm)



SLIKA 247 – *Varroa destructor*, grinja, parazit pčele
(na slici se nalazi na abdomenu pčelinje lutke)
([https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Varroa_destructor_on_a_bee_nymph_\(5048094767\).jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Varroa_destructor_on_a_bee_nymph_(5048094767).jpg))

PITANJA

1. Šta su paraziti?
2. Šta su pravi (stalni), a šta prelazni domaćini nekog parazita?
3. Koje su osnovne osobine protozoa, cestoda, nematoda i artropoda?

MIKROBIOLOGIJA STOČNE HRANE

ULOGA MIKROORGANIZAMA U PROIZVODNJI STOČNE HRANE

Mikroorganizmi u proizvodnji stočne hrane mogu imati **korisnu i štetnu ulogu**. Oni, prije svega, igraju značajnu korisnu ulogu u proizvodnji **silaže** – konzervisane stočne hrane. S obzirom na to da se svježa biljna hrana ne može obezbijediti za ishranu stoke tokom cijele godine, pribjegava se njenom konzervisanju, tj. siliranju. Osnovu siliranja čini **mliječnokisjela fermentacija**. Mliječnokisjelle bakterije fermentišu šećere siliranih biljaka u mliječnu kisjelinu, snižavajući pH na 4,2–4,0 i tako suzbijaju razvoj truležnih, buternih i drugih nepoželjnih bakterija, koje kvarе stočnu hranu. Da bi se osigurao optimalan razvoj bakterija mliječne kisjeline u procesu siliranja, potrebno je da silažne biljke sadrže dovoljno šećera i da se stvore anaerobni uslovi. Osim toga, mikroorganizmi su vrlo dobar **izvor bjelančevina** u stočnoj hrani (kvasci i alge). Ćelijska masa ovih mikroorganizama se u industrijskim uslovima izdvaja iz tečnih hranljivih sredina, presuje i suši, a zatim se u određenom odnosu dodaje kabastim stočnim hranivima. Pošto na ovaj način kabasta hraniva povećavaju sadržaj bjelančevina i vitamina, dodavanje mikroorganizama naziva se još i oplemenjivanje stočne hrane. S druge strane, mikroorganizmi mogu biti i štetni po kvalitet i postojanost hraniva. Svojom biohemijском aktivnošću mogu uzrokovati nepoželjna hemijska razlaganja pojedinih sastojaka hrane i na taj način učiniti hranu **neupotrebljivom** za ishranu stoke. Higijenski neispravna stočna hrana može imati dalekosežne posljedice po zdravlje i produktivne sposobnosti životinja. Stočna hrana često indirektno, preko namirnica životinjskog porijekla, može dovesti do **oboljenja kod ljudi** (salmoneloze, stafilokokne infekcije, kampilobakterioze, klostridioze, mikotoksikoze).

KONTAMINACIJA STOČNE HRANE MIKROORGANIZMIMA I PARAZITIMA

Stočna hrana se kontaminira mikroorganizmima tokom proizvodnje, prerade, skladištenja, transporta ili upotrebe. Na biljkama se nalaze uglavnom bakterije i gljive koje se normalno nalaze u zemljištu. Odатле dospijevaju na biljke na različite načine (vjetrom, kišom, insektima i dr.). Ispitivanjem površinske mikroflore biljaka dokazano je prisustvo koliformnih bakterija, zatim bakterija mliječne, propionske i buterne kiseline, koje se kasnije mogu naći i u silazi. Najčešće saprofitske bakterije u stočnoj hrani su bakterije iz robova: *Bacillus*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Streptococcus*, *Alcaligenes*, *Propionibacter*; *Flavobacterium*, *Escherichia*, *Proteus*, *Nocardia*. Najčešće vrste saprofitskih pljesni u stočnoj hrani su: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Absidia*, *Paecilomyces*. Paraziti koji najčešće mogu kontaminirati stočnu hranu su: larve *Trichinella spiralis*, metacerkarije *Fasciola hepatica*, jaja različitih vrsta pantljičara, jaja i larve valjkastih crva, oociste protozoa i dr.

FAKTORI KOJI UTIČU NA RAST MIKROORGANIZAMA U STOČNOJ HRANI

Razmnožavanje mikroorganizama u stočnoj hrani zavisi od više faktora: vlage, temperature, aerobnih i anaerobnih uslova, vrste i hemijskog sastava hrane, vremena skladištenja, primjesa u hranivima, pH itd.

SILAŽA

Naziv „silaža“ za konzervisanu zelenu stočnu hranu potiče od španske riječi *silo* koja znači rov, podrum, rupa u zemlji. Još u davna vremena, isitnjene zelene biljke su slagane i nabijane u rovove iskopane u zemlji i odozgo pokrivane zemljom. Tako se čuvala stočna hrana koja je dobila naziv „silaža“. Međutim, danas, za konzervisanje većih količina zelene hrane zidaju se silosi – u obliku tornjeva, ili silo-trenčevi – koji su u obliku pravougaonih jama (slika 248).



SLIKA 248 – Sabijanje kukuruzne silaže u silo-trenču

(<http://poljoprivredni-forum.com/showthread.php?t=27645&page=4>)

U silosima je konzervisanje mnogo sigurnije, dobija se silaža dobrog kvaliteta, koju stoka rado jede. Isjeckana biljna masa se elevatorima izdiže i ubacuje kroz otvore na vrhu tornjeva. Istovremeno se vrši i nabijanje usitnjениh biljaka, kako bi se vazduh što više istisnuo. Pošto se silos napuni do vrha, on se nakon toga na pogodan način hermetički zatvara i ostavlja da fermentiše. Silaža je slabijeg kvaliteta u odnosu na svježu biljnu masu i mnogo boljeg kvaliteta u odnosu na sijeno.

Fermentacija (vrenje) silaže

Proizvodnja silaže se zasniva na metaboličkoj aktivnosti bakterija mlijecne kisjeline – ukisjeljavanju zelene biljne mase, pri čemu one zaustavljaju u razviću truležne bakterije i silaža se konzerviše.

Silirana stočna hrana (silaža) je proizvod nastao djelovanjem raznih mikroorganizama na fermentabilne supstrate, prvenstveno ugljene hidrate, u svježoj biljnoj masi koja se konzerviše. Proces siliranja se odvija kroz nekoliko faza. Mehaničkim pritiskom na biljnu masu oslobađa se tečnost iz biljnih tkiva. Biljne ćelije nastavljaju da dišu još neko vrijeme i oslobađaju CO_2 . Razvija se i toplota. Sredina postaje pogodna za razmnožavanje izvjesnih mikroorganizama, među kojima se nalaze i oni koji

stvaraju male količine sirćetne kisjeline. Kisjela sredina je pogodna za razmnožavanje bakterija mlijecne kisjeline i drugih bakterija koje vremenom stvaraju mlijecnu kisjelinu. Zbog toga se nakuplja znatna količina mlijecne kisjeline, koja dostiže 1–1,5% sadržaja mase, a pH tada iznosi oko 4,2. Kisjela reakcija sredine sprečava rast štetnih mikroorganizama koji dovode do truljenja silaže. Dobro silirana hrana se dugo čuva. U slučaju nepravilnog siliranja stočne hrane, bakterije buterne kisjeline razlažu preostale ugljene hidrate i mlijecnu kisjelinu. Osim toga, može nastati i dezaminacija aminokisjelina, što dovodi do stvaranja masnih kisjelina, amonijaka ili amina.

Mogućnosti proizvodnje silaže u zavisnosti od vrste biljke

Različite vrste biljaka pružaju i različite mogućnosti za siliranje. Najbolji uspjeh se postiže siliranjem biljaka koje sadrže najviše šećera, jer se proces konzerviranja sastoji u mikrobiološkom procesu transformacije šećera u kisjeline (uglavnom mlijecnu kisjelinu), pri čemu tako nastala kisjela sredina sprečava razmnožavanje truležnih mikroorganizama. Prisustvo slobodnih šećera u lišću zelenih biljaka je od presudnog značaja za razviće bakterija mlijecne kisjeline. Zato su isjeckani biljni djelovi i sokovi biljaka nastali razaranjem tkiva i ćelija, odlična sredina za razmnožavanje bakterija mlijecne kisjeline i drugih fakultativno anaerobnih i anaerobnih mikroorganizama. Da li će se, pored bakterija mlijecne kisjeline, razmnožiti i drugi mikroorganizmi – koji za svoju ishranu koriste prvenstveno bjelančevine, zavisi od prisustva vode, pH i temperature usitnjene biljne mase. Razmnožavanje ovih drugih mikroorganizama je nepoželjno, jer dolazi do smanjenja sadržaja hranljivih sastojaka (bjelančevina, celuloze, masti) i promjene ukusa i mirisa silaže. Biljke sa manjim sadržajem šećera, a većim sadržajem bjelančevina, kao što su leguminoze (lucerka, djeteline i dr.), teško se siliraju same, pa im se zato dodaju biljke bogatije šećerima ili materije koje lako previru (razblažen rastvor melase, surutka i dr.). Mogu se dodavati i neorganske kisjeline, koje će na vještački način sniziti pH silaže (mravlja, hlorovodonična, fosforna i dr.).

Za siliranje se najčešće koristi zeleni kukuruz bez klipova, zeleni kukuruz sa klipovima u fazi mlijecne zrelosti, zeleni kukuruz pomiješan s drugim zelenim biljkama i suvim rezancima šećerne repe, zeleni ovas, ječam, grahorica, livadske trave, zeleni suncokret, uljana repica, lucerka, uz dodavanje kisjelina ili u smješi sa kukuruzom ili drugim zelenim biljkama bogatijim šećerima.

U procesu siliranja se smanjuje prvobitna hranljiva vrijednost zelene biljne mase. Ovo smanjenje se kreće od 5 do 30% i prvenstveno zavisi od biohemidske aktivnosti mikroorganizama. Međutim, kao rezultat biohemidske aktivnosti specifičnih vrsta

mikroorganizama, u silaži nastaju i nova jedinjenja (organske kisjeline, aminokiseline, vitamini), koja povećavaju hranljivu i biološku vrijednost silaže.

Porijeklo mikroorganizama u silaži

Na površini biljaka se uvijek nalaze mikroorganizmi. Broj i vrsta mikroorganizama u silaži veoma varira u zavisnosti od godišnjeg doba, klime, vrste i starosti biljaka, prirode podloge na kojoj se razvijaju i dr. Na biljkama se nalaze bakterije i gljive koje se nalaze i u zemljištu. Odatle dospijevaju na biljke na različite načine (vjetrom, kišom, insektima i dr.). Mikroorganizmi su na površini biljaka izloženi sunčevim zracima, pa zato preživljavaju samo oni koji su otporni na dejstvo ultravioletnih zraka. Tu spadaju: pigmentirane bakterije, gljive, sporogene vrste bakterija. Takođe je dokazano i prisustvo koli bakterija, bakterija mlječe, propionske i buterne kiseline i drugih vrsta, koje se kasnije mogu naći i u silaži. Od ukupne mikroflore koja se nalazi na biljkama, bakterije mlječe kiseline čine 10–30%. To su najčešće štapičaste vrste: *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus arabinosum* i dr. Od okruglastih vrsta pretežno se nalaze mikrokoke, a od bakterija mlječe kiseline *Lactococcus lactis*. Broj bakterija mlječe kiseline na leguminoznim biljkama i travama je veliki, tako da ne postoji potreba za dodavanjem bakterija mlječe kiseline u čistim kulturama prilikom siliranja – u cilju normalnog ukisjeljavanja silaže. Ovaj značajan broj bakterija mlječe kiseline na biljkama ukazuje da su biljke njihovo prirodno stanište, u kome se one održavaju i razmnožavaju. Za razliku od parazitskih vrsta mikroorganizama koje se razmnožavaju na račun biljnog tkiva koje oštećuju, saprofitske bakterije mlječe kiseline ne oštećuju biljno tkivo, već koriste materije koje biljka izlučuje preko lista.

Osim biljaka koje se upotrebljavaju za siliranje, mikroorganizmi mogu dospjeti u silažu i iz drugih izvora, npr. vazduha, mašina za sjeckanje, podova i zidova silosa, alata za ubacivanje isjeckane biljne mase i nabijanje silaže u silosima i dr.

Kvarenje silaže

Ukoliko se proces ukisjeljavanja silaže ne izvrši potpuno (uslijed pogrešne tehnike siliranja, nedostatka ugljenih hidrata i slabijeg razmnožavanja bakterija mlječe kiseline), može doći do razmnožavanja bakterija buterne kiseline. Usljed transformacije mlječe kiseline u buternu i druge kiseline, dezaminacije nekih aminokiselina i izdvajanja amonijaka, dolazi do smanjenja kisjelosti silaže, odnosno povećanja pH. S obzirom na to da se na ovaj način aktiviju mikrobiološki procesi truljenja, ova faza je štetna za kvalitet silaže i označava početak njenog kvarenja.

U silaži, u kojoj je duže vrijeme omogućen pristup slobodnog kiseonika (otvoreni silosi), razmnožavaju se aerobni mikroorganizmi (uglavnom kvasci i pljesni), koji razlažu bjelančevine i celulozu. Pljesni podnose jako zakisjeljavanje, ali su one strogi aerobi, zbog čega se ne mogu razmnožavati u dobro presovanoj, zakisjelenoj i pokrivenoj stočnoj hrani.

Nepoželjni mikrobiološki procesi smanjuju hranljivu vrijednost silaže i mijenjaju joj ukus i miris (neprijatan miris buterne kisjeline, miris buđi, neprijatan miris truljenja i dr.). Pri tome nastaje niz jedinjenja, koja karakterišu proces truljenja: povećan sadržaj aminokisjelina, proizvodi degradacije aminokisjelina (amini, amonijak, H₂S) i dr. Životinje hranjene pokvarenom silažom izlučuju putem mlijeka veliki broj bakterija i gljiva koji štetno utiče na preradu mlijeka. Naročito su značajne bakterije buterne kisjeline. Vrijednost silaže za ishranu mlijecnih krava se procjenjuje i po sadržaju spora bakterija buterne kisjeline.

SJENAŽA

Sjenaža predstavlja stočno hranivo, koje se dobija konzervisanjem zelenih biljaka tokom procesa sušenja i siliranja, uz pomoć mikroorganizama – bakterija mliječne kisjeline. Zato sjenaža ima osobine i sijena i silaže, pa se još zove i sijeno-silaža. Proces spremanja sjenaže (sjenažiranje) počinje djelimičnim sušenjem (provenjanjem) pokošene mase, što je slično postupku pripreme sijena, a nastavlja se konzervisanjem provenule mase kao kod silaže. Prilikom pripreme sjenaže od lucerke, dodaju se sirovine koje imaju veći sadržaj šećera (mljeveno zrno kukuruza, melasa, suvi rezanci šećerne repe, surutka u prahu i dr.). Sjenaža ima više prednosti u odnosu na sijeno: sa sadržajem vlage 45–50%, sjenaža zadržava svježinu, list biljke je u cjelini sačuvan, nema mehaničkih gubitaka, očuvana je prirodna boja i miris biljke, a hemijski sastav je u odnosu na zelenu biljku neznatno promijenjen. Pravljenje sjenaže se vrši u specijalnim silo-objektima, tzv. sjenažerima, jer se u njima obezbjeđuje stvaranje stroga anaerobne sredine.

UPOTREBA MIKROORGANIZAMA KAO DODATKA STOČNOJ HRANI

S obzirom na to da se mikroorganizmi brzo razmnožavaju, to ukazuje na mogućnost njihovog korišćenja u proizvodnji organskih materija za ishranu. Tu se najčešće misli na upotrebu nekih vrsta **algi** (*Chlorella*) i **kvasaca** koji se gajenjem u pogodnim uslovima ishrane, u specijalnim bazenima i tankovima za vrenje, mogu industrijski proizvoditi u velikim količinama. Njihova sposobnost sinteze složenih organskih

jedinjenja (bjelančevina i masti) je toliko velika, da se teško može uporediti sa sintezom organskih jedinjenja u biljkama i životinjama. Kvasci, na primjer, proizvode bjelančevine 15.000 do 17.000 puta brže od goveda.

Iskorišćavanje nekih vrsta morskih algi za hranu odavno je poznato u mnogim zemljama Azije. U nekim zemljama su izgrađene fabrike stočne hrane, koje koriste i morske alge za spremanje koncentrovane stočne hrane. U našoj zemlji bi se mogao iskoristiti potencijal mora za dobijanje algi u cilju ishrane stoke. Takođe su kao dodaci stočnoj hrani značajni kvasci. Oni su **bogat izvor proteina i vitamina**, naročito vitamina B grupe. Kvasci predstavljaju najbogatiji izvor vitamina B grupe u prirodi. Njihovo dodavanje stočnoj hrani ima i značaj „vitaminiziranja“ hrana, pa se govori o „oplemenjivanju hrana“ mikroorganizmima. Danas se za proizvodnju stočnog kvasca najčešće upotrebljavaju kvasci rodova: *Torulopsis* (*Torula utilis*, *Torula pulcherima*), *Candida* (*Candida tropicalis*, *C. arborea*, *C. pulcherima*), *Saccharomyces* (*Saccharomyces cerevisiae*, *S. logos*, *S. lactis*), *Hansenula* (*H. anomala*, *H. suaveolens*) i dr.

Stočni kvasac se proizvodi na sličan način kao i pekarski kvasac. Bazen ili tank za vrenje se puni hranljivim rastvorom (melasa, surutka ili komina), dodaje se kvasac, a zatim se rastvor s kvascem snažno miješa i stalnim uvođenjem sterilnog vazduha energično provjetrava. Na taj način je svaka ćelija kvasca u stalnom dodiru s dovoljnim količinama slobodnog kiseonika. Fermentacija traje nekoliko dana (2–3) i kada kvasci potroše sav šećer, proces se prekida i pristupa se izdvajajući kvasca. Kvasac se izdvaja pomoću separatora, pri čemu se dobija tzv. „kvaščeve mlijeko“, koje se propušta kroz specijalne filtere, na kojima se ćelije zaustavljaju i izdvajaju od ostale tečnosti. Poslije toga, kvasac se podvrgava presovanju i sušenju. Na ovaj način se dobija vrlo koncentrovana bjelančevinasta masa, koja se miješa sa ostalim hranljivim sastojcima stočne hrane u određenim razmjerama, ili se miješa sa kabastim hranivima neposredno pred davanje stoci.

PROBIOTICI

Riječ „probiotik“ je grčkog porijekla i znači „za život“. Probiotici su **žive kulture mikroorganizama** koje, dodata u hranu, u crijevima podstiču određene metaboličke procese koji poboljšavaju svarljivost i resorpciju hrane. U crijevima toplokrvnih životinja **bakterije mlječne kiseline** čine korisnu mikrofloru. Ove bakterije se, s jedne strane, bore sa nepoželjnim mikroorganizmima, a s druge, stimulišu korisne bakterije na proizvodnju potrebnih enzima i hranljivih materija. Bakterije mlječne kiseline imaju sposobnost da proizvode metabolite koji inhibiraju različite kontaminante, uključujući i patogene bakterije (*Listeria*, *Salmonella*, *Yersinia*, *Brucella*,

Escherichia, Clostridium i dr.). Oni se daju životinjama u cilju sprečavanja pojave infekcija, jačanja korisne mikroflore, kao i nespecifičnog jačanja imunog sistema. Bakterije, kao što su *Lactobacillus acidophilus* i *Enterococcus faecium*, imaju ulogu u održavanju povoljne ravnoteže u mikroflori crijeva. Kao prirodni stanovnici crijeva, proizvodnjom mlječne kiseline održavaju ravnotežu sa patogenim bakterijama. Bakterije mlječne kiseline se vežu za receptore na ćelijama sluzokože crijeva i tako onemogućavaju naseljavanje koliformnih bakterija, posebno patogenih *E. coli*. Stvaranjem kiseline, smanjuje se pH crijevnog sadržaja, koji nepovoljno djeluje na patogene bakterije. Kisela sredina crijeva je pogodna za enzymsku aktivnost u procesu varenja hrane. Da bi bio efikasan, probiotik treba da ispunjava određene uslove, kao što su sljedeći: ne smije biti toksičan, ne smije izazvati oboljenje, treba da je normalan stanovnik crijeva, da ima sposobnost stvaranja mlječne kiseline. Takođe treba da bude postojan u gotovom proizvodu, kako bi, nakon unošenja u organizam, bio sposoban da se razmnožava u crijevima. Probiotski mikroorganizmi moraju preživjeti djelovanje želudačne kiseline, kao i žučnih kiselina, kako bi do crijeva stigli živi i bili djelotvorni.

PREBIOTICI

Prebiotici su **nesvarljivi sastojci hrane** koji povoljno djeluju na domaćina, tako što stimulišu rast i aktivnost poželjnih bakterija u digestivnom traktu. Od brojnih sastojaka hrane, neskrbni ugljeni hidrati, posebno nesvarljivi oligosaharidi, za sada jedini ispunjavaju zahteve prebiotika. Neki od njih su **manani i inulin**. Manani (polisaharidi, polimeri šećera manoze) se vezuju sa patogenim bakterijama (*E. coli*, *Salmonella*, *Clostridium*, *Vibrio*), čime se onemogućava adherencija ovih patogenih bakterija za sluzokožu crijeva. Poželjne vrste bakterija u digestivnom traktu (*Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus casei*, *L. acidophilus*, *L. delbrueckii*) sadrže enzim manazu, zbog čega je onemogućeno vezivanje ovih bakterija sa mananom. S obzirom na to da posjeduju enzime za razgradnju prebiotika, ove poželjne bakterije mogu da koriste prebiotike kao hranu. To im dodatno omogućava da nadvladaju potencijalno štetne bakterije. Prebiotici prolaze kroz prednje djelove digestivnog trakta nesvareni i tek u debelom crijevu podliježu potpunoj fermentaciji od strane poželjnih bakterija. Zbog sinergističkog djelovanja, probiotici i prebiotici se vrlo često dodaju zajedno u hrani.

KVARENJE STOČNE HRANE

Aktivnost mikroorganizama, pored toga što može da bude korisna, može da bude i štetna za kvalitet hraniva. Saprofitske bakterije i gljive **hidrolizuju ugljene hidrate, bjelančevine i masti**, pri čemu nastaju jedinjenja koja daju hranivima neprijatan ukus i mijenjaju im boju.

Mikroorganizmi su uvijek prisutni u stočnoj hrani. Međutim, njihov broj zavisi od uticaja spoljašnjih ekoloških faktora, kao što su vлага, temperatura, pH, prisustvo kiseonika, hemijski sastav hraniva itd.

Uspješno se mogu čuvati samo ona hraniva, čiji sadržaj vlage nije veći od 18 do 20%. Suva koncentrovana hraniva su više higroskopna i, ukoliko nisu hermetički zatvorena, ne smiju se čuvati duže pri visokoj relativnoj vlažnosti vazduha. Mikroorganizmi počinju da se razmnožavaju već kod 75% relativne vlažnosti (osmofilni kvasci i pljesni), a kod vlažnosti od 80 do 90% na površini se razvijaju i štetne bakterije i pljesni. Prilikom sušenja sijena, treba strogo voditi računa da se sušenje pravilno izvrši. Ukoliko se u plastove ili presovane bale sijena unesu manje ili veće količine nedovoljno osušene trave ili dođe kasnije do vlaženja, može doći do mikrobioloških procesa i kvarenja sijena. Tom prilikom se razvijaju mezofilni i termofilni mikroorganizmi, jer se temperatura ovlaženog sijena postepeno povećava s napredovanjem mikrobioloških procesa. Ovaj način kvarenja (obično u središnjim djelovima plastova i kamara) naziva se „upaljenjem“ sijena zbog povećanja temperature biljne mase. Tom prilikom dolazi do energičnog razlaganja celuloze, hemiceluloze i drugih ugljenih hidrata, zatim bjelančevina i drugih sastojaka, uslijed čega se mijenja boja, sijeno postaje u početku mrke boje, a kasnije sasvim crno, tako da nastupa neka vrsta humifikacije. Ovakvo sijeno se može upotrijebiti jedino kao organsko đubrivo.

Silaža može da se pokvari ako silos stoji duže vremena otvoren na vazduhu. Već poslije nekoliko dana, na površinskim djelovima silaže dolazi do razvića kvasaca i pljesni *Oidium*, a nešto kasnije i drugih pljesni i aktinomiceta, što dovodi do budanja – pljesnivosti i osluznjavanja silaže. Pljesni i kvasci se brzo razvijaju zahvaljujući kisjeloj sredini i sadržaju organskih kisjelina, pošto su tipični acidofili. Obrazovanje pigmenata i pojava pljesnivog mirisa najbolji su znaci kvarenja silaže razvićem aerobnih mikroorganizama. Zato, svakodnevno ili bar svaki drugi dan treba potrošiti gornji sloj silaže debljine 20–30 cm. Na ovaj način se pljesnimima ne ostavlja vremena za razmnožavanje.

MIKROORGANIZMI – NAJČEŠĆI IZAZIVAČI KVARENJA STOČNE HRANE

Mikroorganizmi koji najčešće dovode do kvarenja stočne hrane su bakterije iz rođova: *Micrococcus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Flavobacter*, *Escherichia*, *Proteus*, aktinomicete; pljesni iz rođova: *Alternaria*, *Cladosporium*, *Helminthosporium*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Absidia*, *Trichotecium*, *Cephalosporium* i kvasci.

PATOGENI MIKROORGANIZMI U STOČNOJ HRANI

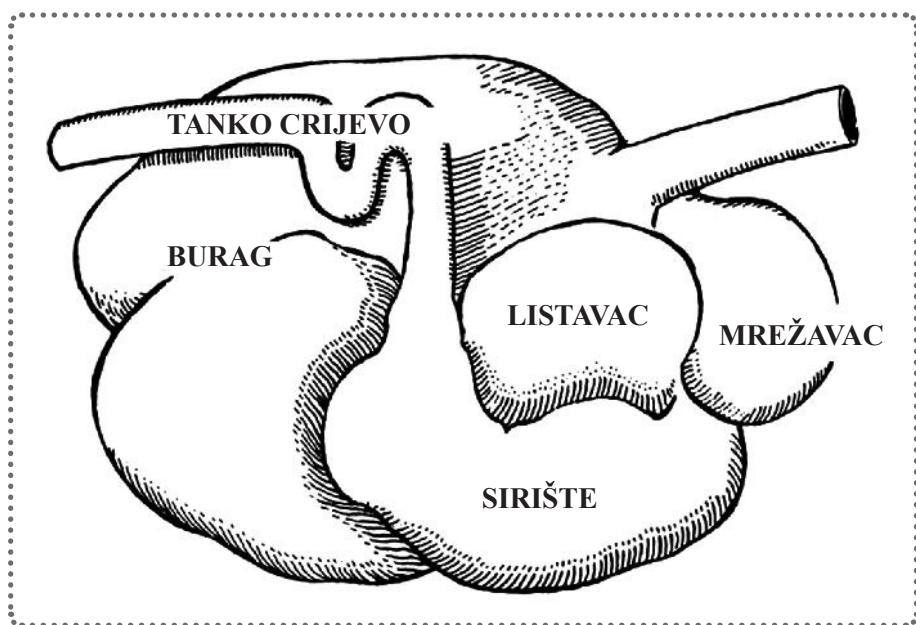
Toksikogene bakterije koje kontaminiraju stočnu hranu uzrokuju oboljenja domaćih životinja i ljudi. Neke vrste stočne hrane, kao što su nepravilno pripremljena silaža, nedovoljno osušeno sijeno, hrana životinjskog porijekla (koštano i riblje brašno), pružaju dobre uslove za razvoj bakterija. Ako toksikogene bakterije sa hranom dospiju u organe za varenje životinja i ljudi, može doći do opasnih oboljenja. U stočnoj hrani se mogu naći razni patogeni i uslovno patogeni mikroorganizmi, kao što su: *Escherichia coli*, bakterije iz rođova: *Salmonella*, *Shigella*, *Clostridium* (*Clostridium botulinum* i *Clostridium perfringens*), *Proteus*, *Staphylococcus*, *Rickettsia*, *Brucella*, *Bordetella*, *Neisseria*, *Mycoplasma*, *Mycobacterium*, *Campylobacter*, *Listeria*. Takođe se mogu naći spore *Bacillus anthracis*, virusi (slinavke i šapa, atipične kuge peradi), pljesni (iz rođova: *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Mucor*, *Claviceps*, *Ustilago*, *Puccinia*, *Trichophyton*, *Microsporum*), kvasci (*Candida albicans*) i dr.

PITANJA

1. Koja je korisna uloga mikroorganizama u proizvodnji stočne hrane?
2. Koja je štetna uloga mikroorganizama koji kontaminiraju stočnu hranu?
3. Šta je silaža i kako se dobija?
4. Koja je osnovna biohemijska reakcija koja je odgovorna za dobijanje silaže?
5. Šta je sjenaža i kako se dobija?
6. Koji su izvori kontaminacije stočne hrane mikroorganizmima?
7. Od kojih faktora zavisi razvoj mikroorganizama u stočnoj hrani?
8. Koji mikroorganizmi najčešće dovode do kvarenja stočne hrane?
9. Koje se saprofitske vrste pljesni najčešće nalaze u stočnoj hrani?
10. Koji se patogeni mikroorganizmi mogu naći u stočnoj hrani?
11. Zašto je kontrola higijene stočne hrane veoma značajna?
12. Koji se mikroorganizmi koriste kao dodatak stočnoj hrani?
13. Šta su probiotici?
14. Šta su prebiotici?

..... ULOGA MIKROORGANIZAMA U VARENJU HRANE KOD PREŽIVARA

Preživari se u pogledu varenja hrane razlikuju od ostalih životinja po posebnoj gradi želuca i preživanju hrane. Njihov želudac je građen iz predželuca i pravog želuca. Predželudac čine tri dijela (komore), a to su: burag (*rumen*), mrežavac (*reticulum*) i listavac (*omasum*) (slika 249).



SLIKA 249 – Građa želuca preživara

Aktivnost mikroorganizama u buragu je veoma složena i može se svesti na dva osnovna – biohemski suprotne procesa. S jedne strane, mikroorganizmi **razlažu** pojedine sastojke stočne hrane (celuloza, skrob, hemiceluloza, bjelančevine, masti i dr.) do prostih molekula šećera, kisjelina, alkohola, gasova i drugih jedinjenja. S druge strane, u procesima biosinteze i izgradnje sopstvenih ćelija, mikroorganizmi **sintetišu** nove sastojke koji hranom nisu uneseni (aminokiseline, bjelančevine, glikogen, masti, vitamine i dr.). Pri tome, za sintezu koriste sastojke hraniva koji su nastali u procesu biohemiskog razlaganja od strane mikroorganizama ili enzimima samog domaćina ili sastojke hraniva koji su kao takvi uneseni u burag (naročito neorganske soli).

Veliki broj bakterija iz neorganskog oblika azota i sumpora (amonijaka i elementarnog sumpora) i organskih kisjelina sintetišu nove aminokiseline. Značajan doprinos mikroorganizama je i u snabdijevanju stoke vitaminima. Kvasci su veoma bogat izvor vitamina, naročito B grupe. Neke bakterije, kao što su crijevne (*E. coli*, *E. aerogenes*), sintetišu niz vitamina, među kojima i vitamin B₁₂ (kobalamin). Na ovaj način, mikroorganizmi doprinose normalizovanju opšteg metabolizma kod životinja i dodatno ih snabdijevaju vitaminima.

Protozoe koje se hrane bakterijama i manjim protozoama (kanibalizam), kao i skrobom i drugim sastojcima stočne hrane, predstavljaju punovrijednu bjelančevinastu hranu za domaćina. Postoji pozitivna korelacija između uhranjenosti preživara, proizvodnje mlijeka, vune, mesa, s jedne strane, i broja protozoa, s druge.

MIKROFLORA BURAGA

U buragu je utvrđeno prisustvo ogromnog broja mikroorganizama (preko 1x10⁹/g). Broj i vrsta mikroorganizama u buragu se mijenja u toku života životinje. Organi za varenje mlađunčadi su odmah po rođenju potpuno sterilni. Međutim, sa prvim gutljajima mlijeka i hrane uopšte i udisanjem vazduha, počinje naseljavanje unutrašnjih šupljina i sluzokože mikroorganizmima.

Bakterije mlijječne kisjeline su prvi stanovnici buraga, a kasnije, unošenjem, pored mlijeka i druge hrane, broj mikroorganizama i njihova raznovrsnost postaje veća. Kod goveda starosti 3–6 mjeseci formira se stalna mikroflora, koja ostaje do kraja njihovog života. Međutim, broj i vrsta mikroorganizama u buragu varira ne samo u zavisnosti od uzrasta životinje, nego i u zavisnosti od vrste, odnosno sastava hrane. U buragu postoje veoma **pogodni uslovi** za razmnožavanje bakterija i protozoa: stalna temperatura 37–38°C, neutralna sredina (zahvaljujući velikim količinama pljuvačke, vo izluči 60 l pljuvačke dnevno), stalni dotok hranljivih sastojaka, fakultativno anaerobna i anaerobna sredina s većim pritiskom CO₂. Mikroflora buraga sastoji se od tri grupe mikroorganizama, a to su: **bakterije, kvasci i protozoe**. U ukupnom broju mikroorganizama u buragu dominiraju bakterije. S obzirom na to da protozoe čine 25% mase ukupne mikrobiološke supstance, njihov značaj je takođe veliki.

BAKTERIJE

U buragu se mogu naći **štapićaste i okrugle** – fakultativno anaerobne i anaerobne bakterije.

Štapićaste bakterije

Štapićaste fakultativno anaerobne bakterije

- **Koli bakterije** (najčešće: *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes* i *Enterobacter cloacae*). Nalaze se u malom broju, pa im se ne pridaje poseban značaj u varenju hrane.
- **Bakterije mlijecne kiseline** (*Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermenti*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bifidum*).
- **Bacili** (*Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus circulans*). Ovih bakterija u buragu ima znatno manje u odnosu na ostale vrste. Imaju određenu ulogu u hidrolizi bjelančevina.

Štapićaste anaerobne bakterije

Nalaze se u većem broju i imaju raznovrsniju fiziološku i biohemiju aktivnost. Najviše ima anaerobnih **asporogenih** vrsta štapićastih bakterija. To su bakterije iz robova: *Butyrivibrio*, *Succinomonas*, *Succinivibrio*, *Bacteroides*, *Ruminobacter*, metanske bakterije, bakterije propionske kiseline. Bakterije iz robova *Bacteroides* i *Ruminobacter* su celulozne bakterije – razlažu celulozu. Metanske bakterije stvaraju veće količine metana iz H_2 , CO_2 i mravlje kiseline. Bakterije propionske kiseline stvaraju sirćetu kiselinu, propionsku kiselinu i CO_2 .

Sporogenih anaerobnih štapićastih bakterija ima srazmjerno malo u odnosu na asporogene anaerobne štapićaste bakterije. U burag dolaze hranom, ali se smatra da se u buragu ne razmnožavaju. Od ovih bakterija nađene su spore *Clostridium perfringens*, *Clostridium longisporus*, *Clostridium butyricum*, *Clostridium sporogenes* i dr.

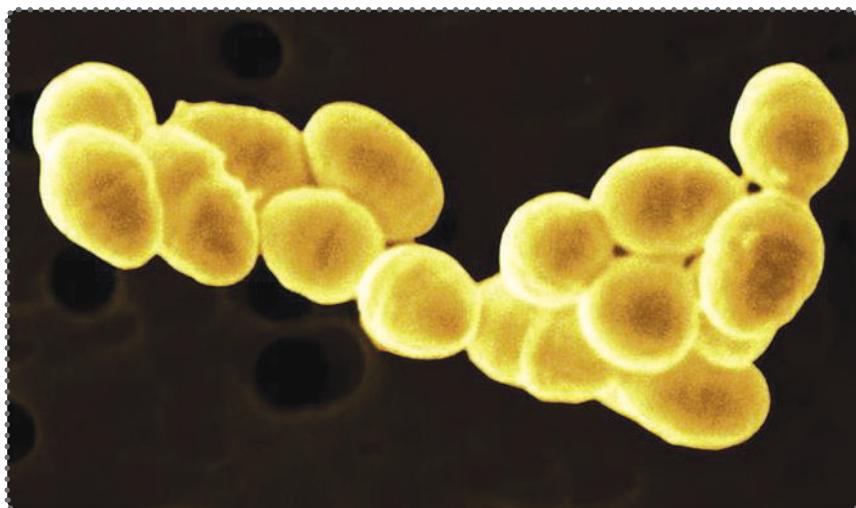
Okrugle bakterije

Okrugle fakultativno anaerobne bakterije

Od ovih bakterija u buragu se najčešće mogu naći: *Streptococcus bovis* (hidrolizuje skrob), *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus liquefaciens*, *Sarcina barkeri* i dr.

Okrugle anaerobne bakterije

Ove bakterije se nalaze u većem broju od okruglih fakultativno anaerobnih bakterija i značajne su za razlaganje celuloze, skroba i drugih sastojaka hrane. U razlaganju celuloze učestvuju *Ruminococcus flavefaciens* (slika 250), *Peptostreptococcus elsdenii* i dr. Fermentaciju laktata do propionske kiseline vrši *Veillonella alcalescens*. U buragu se mogu naći i druge vrste okruglih bakterija koje se nalaze na biljkama.



SLIKA 250 – *Ruminococcus spp.* (SEM)
(<http://universe-review.ca/I11-30-ruminococcus.jpg>)

PODJELA BAKTERIJA BURAGA U ODNOSU NA SUPSTRAT KOJI RAZLAŽU

Bakterijske vrste retikulo-rumenskog sadržaja se na osnovu supstrata mogu svrstati u sljedeće vrste: celulolitičke, hemicelulolitičke, pektinolitičke, amilolitičke, proteolitičke i urolitičke. Pri ishrani sijenom, u mikroflori dominiraju **celulolitičke**, a pri ishrani koncentratom i silažom – **amilolitičke bakterije**.

Najviše su zastupljene bakterije iz rodova: *Butyrivibrio*, *Succinomonas*, *Succinivibrio*, *Ruminococcus*, *Bacteroides*, *Selenomonas*, *Ruminobacter*.

KVASCI

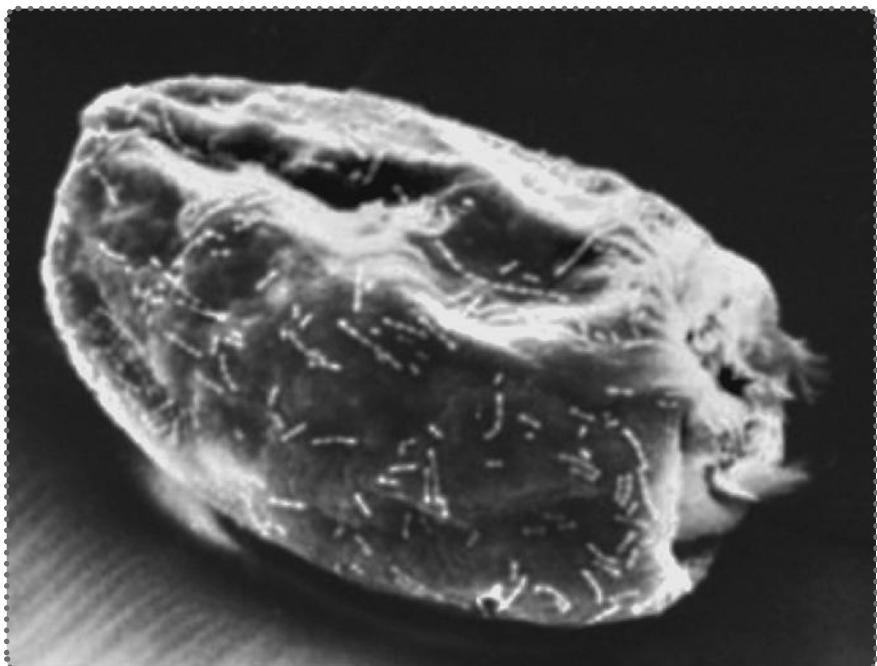
Broj kvasaca u buragu takođe varira zavisno od vrste hrane. Najviše su zastupljeni kvasci iz rodova: *Candida* (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. crusei*, *C. rugosa*), *Trichosporon* (*T. cutaneum*, *T. sericeum*), *Rhodotorula* (*R. glutinis* – slika 251, *R. mucilaginosa* – sinonim *R. rubra*, *R. macerans*). Zbog anaerobnih uslova u buragu, kvasci se u njemu ne mogu razmnožavati u većem broju.



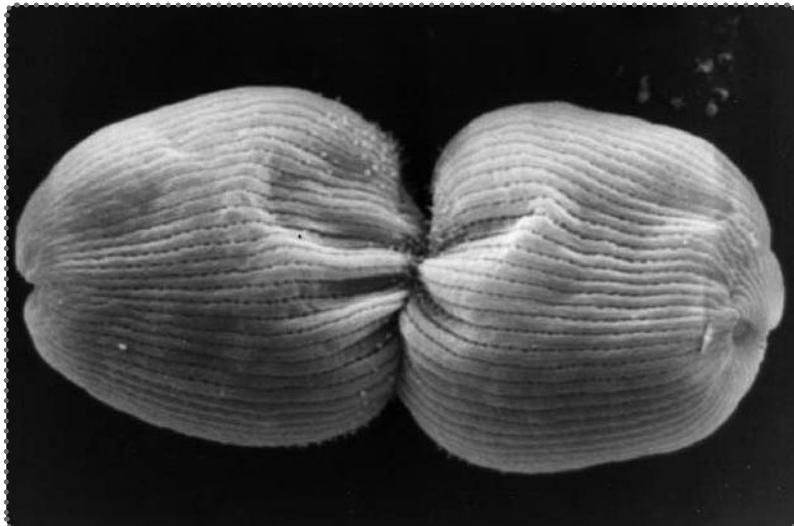
**SLIKA 251 – Kolonije *Rhodotorula glutinis* na Sabouroud agaru
sa 2% glukoze**
(<http://en.wikipedia.org/wiki/Rhodotorula>)

Protozoe

Broj protozoa u buragu raste sa boljom ishranom životinja. Njihov broj se kreće od nekoliko hiljada do 1–2 miliona po mililitru sadržaja buraga. Iz sadržaja buraga je izdvojeno **više od 45 vrsta protozoa**. Glavni predstavnici protozoa su iz klase *Ciliata* (vrste iz rodova: *Entodinium*, *Diplodinium*, *Ophryoscolex*, *Isotricha*, *Dasytricha*). Oko 80% svih protozoa u buragu pripada vrstama iz rodova *Diplodinium* (slika 252) i *Entodinium* (slika 253).



SLIKA 252 – *Diplodinium anisacanthum* sa adheriranim metanogenim bakterijama (SEM)
(https://www.tankonyvtar.hu/en/tartalom/tamop425/0010_1A_Book_angol_05_termeleselettan/ch04_s02.html)



SLIKA 253 – *Entodinium*, u fazi diobe (SEM)
(<https://commtechlab.msu.edu/sites/dlc-me/zoo/zac0288.html>)

Od *Rhizopoda* (amebe) i *Flagellata* (bičari) u buragu se nalazi vrlo mali broj vrsta.

BIOHEMIJSKA AKTIVNOST MIKROORGANIZAMA U BURAGU

Razlaganje celuloze

Preživari, kao i druge životinje, ne sintetišu enzim za razlaganje celuloze. Međutim, mikroorganizmi koji naseljavaju burag sintetišu ovaj enzim, zbog čega preživari mogu da iskorišćavaju hraniva bogata celulozom.

Razlaganje celuloze je od prvorazrednog značaja za ishranu preživara. Oko 70% od ukupne unesene celuloze se razloži u buragu, a ostatak u ostalim djelovima organa za varenje. U razlaganju celuloze učestvuju prvenstveno **bakterije** koje imaju enzime **celulazu i celobiazu**. Dalju transformaciju šećera vrši niz drugih vrsta mikroorganizama koji nisu u stanju da razlažu nativnu celulozu. Prisustvo „pratećih“ mikroorganizama je od velikog značaja za aktivnost „celuloznih“ bakterija, jer je utvrđeno da i najmanje nagomilavanje proizvoda razlaganja zaustavlja razviće „celuloznih“ bakterija.

Kao krajnji proizvodi razlaganja celuloze u soku buraga nakupljaju se, uglavnom, masne isparljive kisjeline, najviše **sirćetna** (55–75%), zatim **propionska** (oko 25%), **buterna** i druge. Izdvajene kisjeline u buragu se djelimično neutrališu solima iz pljuvačke, koje djeluju kao puferi. U soku buraga se mogu naći i druge organske kisjeline, kao npr. mlijeca, čilibarna, mravlja, pirogrožđana, zatim acetaldehid, etilalkohol i drugi proizvodi vrenja. Dalji proizvodi razlaganja su gasovi: CO_2 , CH_4 , H_2 , čije količine mogu veoma da variraju. Gasove, naročito metan, ne stvaraju prave „celulozne“ bakterije, nego prateća mikroflora – specifične „metanske“ bakterije. Ukoliko ove kisjeline mikroorganizmi ne upotrijebe za svoju ishranu ili kao energetski materijal, asimiliše ih sam domaćin i u ciklusu trikarbonskih kisjelina uključuje ih u opšti tok svog metabolizma.

Celulozni mikroorganizmi u buragu su sa domaćinom u **simbiozi** jer, razlažući celulozu, pružaju domaćinu proizvode razlaganja celuloze, kao i ostale sastojke ćelija koje je celulozna opna zatvarala, a domaćin snabdijeva mikroorganizme hranljivim sastojcima, obezbeđuje im dovoljno vlage i stalnu temperaturu – kao u termostatu.

Razlaganje proteina

Razgradnjom proteina dolazi do oslobođanja aminokiselina, amonijaka, CO_2 i H_2S u procesima koji se nazivaju „**truljenje**“. Izdvajanje amonijaka od velikog je značaja za procese biosinteze i izgradnju mikrobiološkog proteina.

Amonijak koji nastaje u procesu mikrobiološke hidrolize prostih organskih azotnih jedinjenja (npr. karbamida – ureje) može biti veoma značajan izvor snabdijevanja bakterija azotom, pri ishrani stoke hranivima siromašnim proteinima.

UTICAJ MIKROORGANIZAMA NA POJAVU NADUNA KOD PREŽIVARA

U izvjesnim slučajevima mikrobiološka aktivnost pri varenju hrane može da bude štetna, pa čak i opasna po život domaćina. To je slučaj kod naduna. Nadun se javlja kod ishrane preživara većom količinom **zelenih leguminoza**.

Pri tome dolazi do burnog razmnožavanja mikroorganizama uslijed povoljnog odnosa između ugljenih hidrata i bjelančevina. Uporedo sa izdvajanjem gasova, dolazi do izdvajanja određenih saponina i polisaharida koji obrazuju **čvrstu pjenu**. Pjena, zajedno sa ostacima nesvarene hrane, obrazuje na otvorima jednjaka i crijeva vrstu **zapušaća**, koji ometa ili potpuno sprečava normalno izdvajanje gasova preko jednjaka (podrigivanje) ili crijeva. Pri nadimanju, dolazi do **smanjenja broja protozoa**

u buragu i povećanja broja okruglih i štapićastih bakterija, koje fermentišu laktate, uz obilno stvaranje gasova. Saponini potiču iz leguminoza, a sluzasti polisaharidi iz kapsule okruglih bakterija. Broj protozoa se smanjuje uslijed povećane kiselosti buraga, što povoljno utiče na aktivnost mikroorganizama.

DINAMIKA RAZMNOŽAVANJA MIKROORGANIZAMA U ORGANIMA ZA VARENJE PREŽIVARA

Prelaskom mikroorganizama iz buraga u sirište i tanko crijevo njihov broj se **naglo smanjuje**. Protozoe se potpuno gube u sirištu, gdje se praktično više nijedna ne nalazi u životu. Bakterije odolijevaju kiseloj sredini i enzimima sirišta, ali propadaju djelovanjem enzima u duodenumu i jejunumu. Najviše se smanjuje broj štapićastih, (99%), a znatno manje okruglih bakterija (65%). Okrugle bakterije ponovo počinju da se razmnožavaju (sporo) u zadnjim djelovima jejunuma, ileumu i cekumu, ali im u debelom crijevu broj ponovo opada. Imajući u vidu promjenu broja mikroorganizama u pojedinim djelovima digestivnog trakta preživara, može se zaključiti da preživari koriste mikroorganizme **kao izvor punovrijednih bjelančevina i aminokiselina**.

PITANJA

1. Koji su djelovi želuca preživara?
2. Koji je značaj mikroorganizama u varenju hrane kod preživara?
3. Koje su bakterije najzastupljenije u buragu?
4. Koji je značaj protozoa u varenju hrane kod preživara?

..... MIKROBIOLOGIJA MLJEKA I PROIZVODA OD MLJEKA

U toku evolucije, pojedine vrste mikroorganizama prilagodile su se nekim specifičnim uslovima temperature, ishrane, kisjelosti sredine, pa se mogu češće naći u određenim sredinama. Prirodno stanište mikroorganizama u najvećem broju slučajeva je **zemljište**, odakle dolaze u druge sredine, kao što su **voda, vazduh, ljudi, životinje, biljke** itd. Mikrobiologija mlijeka izučava mikroorganizme kojima su mlijeko i proizvodi od mlijeka **prirodno stanište** za život i čijom se biohemijskom aktivnošću mijenjaju fizičke, hemijske i organoleptičke osobine ovih proizvoda.

PORIJEKLO MIKROORGANIZAMA U MLJEKU

Tokom dobijanja, obrade, transporta i čuvanja, mlijeko neprestano dolazi u dodir s drugim tijelima, koja na sebi ili u sebi sadrže različite vrste mikroorganizama. Oni svojom biohemijskom aktivnošću mogu popraviti ili pokvariti kvalitet mlijeka i proizvoda od mlijeka. Mikroorganizmi u mlijeku potiču iz žive i nežive prirode. Najčešći izvori kontaminacije mlijeka iz žive prirode su: muzna stoka, radno osoblje, insekti (prvenstveno muve), a iz nežive prirode: zemljište, voda, vazduh, mljekarski pribor, prostirka, balega, mokraća, stočna hrana i dr. Mlijeko se, dakle, može kontaminirati različitim mikroorganizmima **sa svih površina** sa kojima dolazi u kontakt. Njihov broj u mlijeku zavisi od velikog broja uslova pod kojima se mlijeko dobija, obrađuje, prenosi i čuva.

MLJEKO KAO SREDINA ZA RAZMNOŽAVANJE MIKROORGANIZAMA

Zahvaljujući svom hemijskom sastavu, mlijeko predstavlja **idealnu sredinu** za razmnožavanje mikroorganizama, prvenstveno heterotrofnih bakterija, pljesni i kvasaca. Osnovni sastojci kravljeg mlijeka su: voda (87,5%), mlječna mast (3,7%), laktoza (4,7%), bjelančevine (3,4%), neorganske soli (Ca, K, Na, P i dr.) – oko 0,7%. Mlijeko je neutralne ili slabo kisjele reakcije (pH 6,6). Pored sastava mlijeka, na brzinu razmnožavanja mikroorganizama značajno utiče temperatura i drugi faktori.

Osim saprofitskih mikroorganizama koji izazivaju promjene u konzistenciji, ukusu, mirisu i boji mlijeka, u njemu se mogu naći i razmnožavati i patogeni mikroorganizmi.

BAKTERIJE U MLJEKU

Od svih mikroorganizama, u mlijeku se najčešće nalaze bakterije. Promjene u mlijeku koje prouzrokuje „saprofitska mikroflora“ po pravilu su **štetne** i smanjuju vrijednost mlijeka, bilo kao hrane, bilo kao sirovine za preradu. Iz tog razloga teži se, prije svega, da se što više smanji dospijevanje mikroorganizama u mlijeko, a zatim onemogući njihovo razviće u njemu. Među bakterijama koje se najčešće nalaze u mlijeku razlikuje se nekoliko fiziološki potpuno izdvojenih grupa:

- **acidogene bakterije – bakterije mlječne kiseline**, koje vrenjem – fermentacijom šećera stvaraju kiseline, eventualno gasove i alkohol;
- **acidoproteolitičke bakterije**, koje previru – fermentišu šećere, ali vrše i hidrolizu bjelančevina i masti;
- **truležne bakterije**, koje energično razlažu bjelančevine i masti.

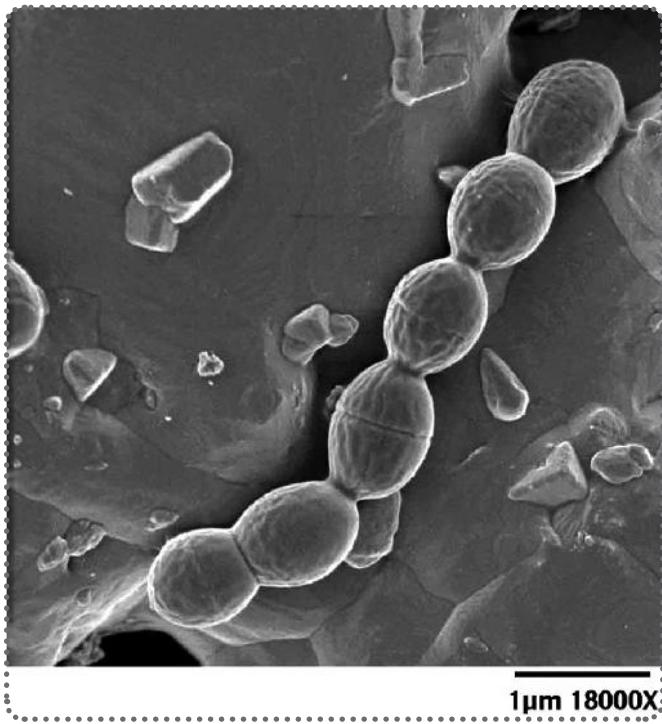
Bakterije mlječne kiseline

Grupu bakterija mlječne kiseline čine gram pozitivne koke – **laktokoke** i gram pozitivni štapići – **laktobacili**. Bakterije mlječne kiseline (acidogene bakterije) imaju sposobnost da vrše fermentaciju šećera, prije svega lakteze, **u mlječnu kiselinsu**. One mogu biti homofermentativne, ako stvaraju samo mlječnu kiselinsu ili heterofermentativne, ukoliko, pored mlječne kiseline, stvaraju i druge proizvode, kao što su sirčetna kiselina, etil alkohol, ugljendioksid itd. Stvarajući povišen sadržaj mlječne kiseline u proizvodima od mlijeka, ove bakterije sprečavaju razmnožavanje nepoželjnih mikroorganizama i na taj način ih čuvaju od kvarenja. Našle su primjenu u proizvodnji sireva, maslaca i fermentisanih proizvoda od mlijeka – jogurta, kiselog mlijeka, acidofilnog mlijeka, kefira, kumisa, dajući im uz to prijatan kiseli ukus i miris.

Laktokoke

Lactococcus lactis subsp. lactis

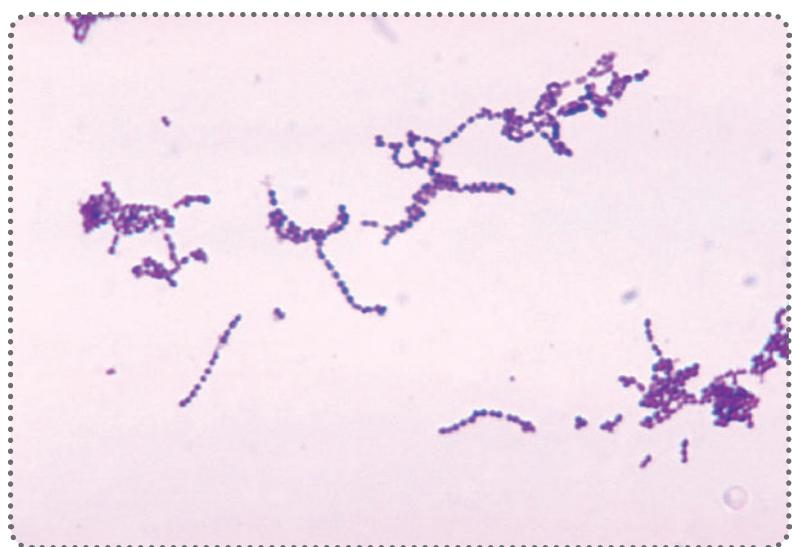
Od bakterija mlječne kiseline, u mlijeku i fermentisanim proizvodima od mlijeka najčešće se nalazi *Lactococcus lactis subsp. lactis* (slike 254 i 255). On je prvi mikroorganizam izolovan u čistoj kulturi. Nalazi se na travi, odakle dospijeva u mlijeko. Javlja se u kratkim lancima sa dvije do šest celija u nizu.



1μm 18000X

SLIKA 254 – *Lactococcus lactis* (SEM)

(http://www.ansci.wisc.edu/bbpic/s900_gallery.html)



SLIKA 255 – *Lactococcus lactis*, bojenje po Gramu, 1000x

(<http://www.studyblue.com/notes/note/n/microbiology-lab/deck/6785141>)

Razmnožava se na temperaturama 5–42°C, optimalna temperatura je 30°C, a najpođnija sredina su mlijeko i fermentisani proizvodi od mlijeka. Optimalna temperatura razmnožavanja ovog mikroorganizma je 30°C. Pri temperaturama od 25°C stvara mliječnu kisjelinu i snižava kisjelost do pH 4,5. Proteine slabo hidrolizuje, a masti uopšte ne razlaže. Upotrebljava se za proizvodnju nekih vrsta sireva, fermentisanih proizvoda od mlijeka i maslaca. Neki sojevi proizvode antibakterijsku supstancu koja se zove nizin, pa su zato našli primjenu u proizvodnji trajnih vrsta sireva. Nizin inhibira rast bakterija iz roda *Clostridium*.

*Lactococcus lactis subsp. *cremoris**

U sirovom mlijeku ovaj mikroorganizam se rjeđe nalazi nego *Lactococcus lactis subsp. lactis*. Optimalna temperatura razmnožavanja ovog mikroorganizma je 20–25°C, a može da se razmnožava i pri 10°C. Pri temperaturi 10–18°C stvara sluzavu kapsulu, zbog čega zajedno sa *Lactococcus lactis subsp. lactis* daje gušću konzistenciju jogurtu.

*Lactococcus lactis subsp. *diacetylactis**

Pripada heterofermentativnim laktokokama, jer razlaganjem laktoze u mlijeku, po red mliječne kiseline, stvara acetoin, diacetil i CO₂. Koristi se u zrenju pavlake i proizvodnji maslaca.

Streptococcus thermophilus

Može se naći na aparatima za mužu i u sirovom mlijeku. Optimalna temperatura rasta ovog mikroorganizma je 40–45°C, minimalna 20°C, a maksimalna 50°C. Preživljava nisku i kratkotrajnu pasterizaciju. U simbiozi sa drugim mikroorganizmima upotrebljava se za proizvodnju jogurta i drugih vrsta kiselog mlijeka, kisjele pavlake i nekih vrsta sireva.

Laktobacili

Laktobacili su gram pozitivni, asporogeni, mikroaerofilni, nepokretni štapići. Rastu u različitim uslovima, pa su zato široko rasprostranjeni u spoljnoj sredini, na biljkama, sluzokoži ljudi i životinja.

Štapičaste bakterije mliječne kiseline nalaze se rjeđe u mlijeku u odnosu na koidne bakterije, ali se obavezno nalaze u nekim proizvodima od mlijeka (kisjelim napicima od mlijeka, srevima i dr.).

Laktobacili stvaraju različite količine mlijecne kisjeline i tako sprečavaju razmnožavanje proteolitičkih mikroorganizama u mlijeku i proizvodima od mlijeka.

Optimalan rast postižu pri niskom pH. Imaju važnu ulogu u proizvodnji fermentisanih proizvoda od mlijeka, tvrdih i mekih sireva.

Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus

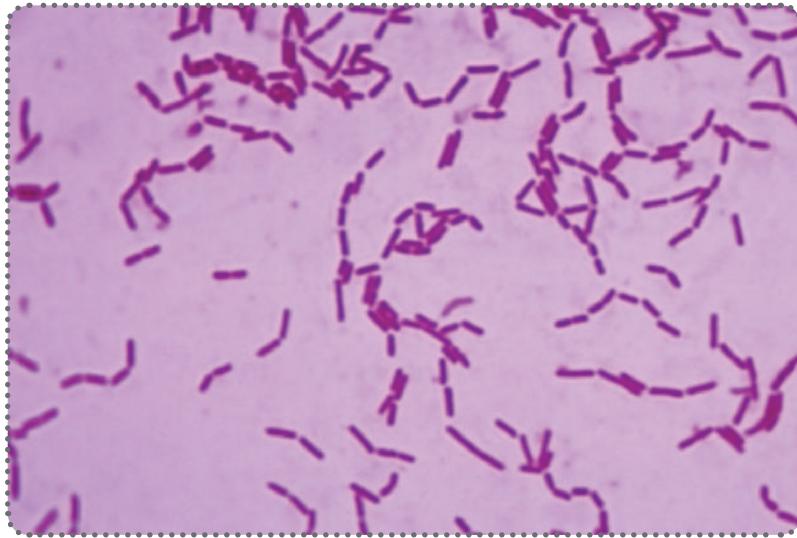
Ovo je jedna od prvih izolovanih vrsta štapićastih bakterija mlijecne kisjeline. Veoma je prilagođen za proizvodnju kiselog mlijeka. Optimalna temperatura mu je 42–45°C (termofilna vrsta).

Lactobacillus kefir

Lactobacillus kefir se koristi u proizvodnji kefira.

Lactobacillus acidophilus

Lactobacillus acidophilus (slika 256) se koristi kao probiotska kultura u proizvodnji acidofilnog mlijeka (slika 257). Kao probiotik, utiče na sprečavanje crijevnih oboljenja ljudi i životinja.



SLIKA 256 – *Lactobacillus acidophilus*, bojenje po Gramu, 1000x
(<http://alizul2.blogspot.com/2013/09/10-grossest-things-in-your-body-right.html>)



SLIKA 257 – Acidofilno mlijeko
(<https://www.medicalnewstoday.com/articles/323364.php>)

U proizvodnji sireva se koriste: *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*, *Lactobacillus brevis* i *Lactobacillus casei*.

Acidoproteolitičke bakterije

U acidoproteolitičke bakterije u prvom redu spadaju koliformne bakterije i bakterije buterne kiseline.

Koliformne bakterije obuhvataju različite vrste asporogenih gram negativnih štapićastih bakterija, koje se najčešće nalaze **u organima za varenje**, ali se, osim toga, mogu naći u zemljištu, vodi i drugim sredinama, u kojima se nalazi organska materija, naročito bjelančevine u većim količinama. Kao tipični predstavnici koliformnih bakterija, najznačajnije su *Escherichia coli* i *Enterobacter aerogenes*. Ove bakterije su indikatori fekalnog zagađenja. Nalaz ovih bakterija u mlijeku je dokaz loše higijene u radu (muža, čistoća sudova, transport mlijeka itd.). Karakteristika koliformnih bakterija je da pri temperaturi od 35°C, za period od 48 časova, razlažu laktozu i stvaraju CO₂. Uzrokuju sluzavost mlijeka, rano nadimanje polutvrđih i tvrdih sireva i rupičavost mekih sireva, gorak ukus, kao i miris mlijeka na trulež.

Bakterije buterne kisjeline su štapićaste, sporogene, striktno anaerobne, dobro se razvijaju u sredinama bogatim ugljenim hidratima, solima organskih kisjelina i bjelančevina. Veoma su raširene u zemljištu, naročito u stajskom đubriva, a mogu se naći još u silaži, mlijeku, proizvodima od mlijeka, konzervama namirnica i dr. Buterna fermentacija je proces u kome se pod uticajem mikroorganizama u anaerobnim uslovima ugljeni hidrati razlažu do buterne kisjeline, ugljendioksida i vodonika. Ovo vrenje izazivaju sporogene anaerobne bakterije iz roda *Clostridium*. Tipičan izazivač ovog vrenja je *Clostridium butyricum*. Ova fermentacija nije poželjna, jer buterna kisjelina daje neprijatan ukus prehrambenim proizvodima. U proizvodnji sireva buterno vrenje je štetno i iz razloga što dovodi do nadimanja sireva. Neke od njih mogu biti patogene (*Clostridium butyricum*, *Clostridium perfringens*).

Proteolitičke – truležne bakterije

Zajednička osobina ove grupe bakterija je da pri razmnožavanju u mlijeku imaju izraženu proteolitičku aktivnost. Razlaganjem bjelančevina mlijeka nastaju različiti proizvodi, kao što su: peptoni, aminokiseline, amonijak i slobodni azot. Ove bakterije se mogu svrstati u dvije osnovne grupe: nesporogene proteolitičke bakterije i sporogene proteolitičke bakterije.

Nesporogene – asporogene proteolitičke bakterije

Nesporogene proteolitičke bakterije koje se mogu naći u mlijeku pripadaju rodovima: *Proteus*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Achromobacter*, *Alcaligenes* i *Micrococcus*. Ove vrste su veoma raširene u prirodi i nalaze se svuda gdje je organska materija. Iz zemljišta ili kanalizacionih voda dolaze u vode, tako da se njihovo širenje može vršiti preko zemljišta, nečistoće uopšte, vazduha, vode, insekata itd. Za mlijeko su naročito štetne vrste rođova *Pseudomonas* (*Pseudomonas fluorescens*) i *Proteus*, jer se vrlo dobro razvijaju i u proizvodima od mlijeka, naročito kajmaku, srevima i maslacu, gdje mogu prouzrokovati njihove ozbiljne mane. U grupu asporogenih štapićastih aerobnih bakterija mogu se svrstati i neke vrste enterobakterija, stalnih stanovnika crijeva, naročito vrste iz roda *Salmonella* i *Shigella*, koje mogu biti opasne po zdravlje, jer svojim endotoksinima izazivaju vrlo ozbiljna trovanja. Od kokoidnih bakterija, značajne su neke vrste iz rođova *Micrococcus*, *Streptococcus* i *Sarcina*. Većina ovih vrsta stvaraju kisjeline iz mlijecnog šećera, ali je njihova proteolitička sposobnost takođe izražena. Mikrokoke su se privikle na niske temperature i mogu se razvijati u mlijeku i mlijecnim proizvodima koji se duže vremena čuvaju u ohlađenom stanju. Vrste iz roda *Sarcina* zapažaju se na proizvodima od mlijeka svojim obojenim kolonijama.

Rod *Proteus*

Bakterije iz roda *Proteus* su aerobni gram negativni štapići koji su rasprostranjeni u vodi i prašini, odakle mogu da kontaminiraju mlijeko pri lošoj higijeni muže. Temperatura pasterizacije ih uništava. Pri razgradnji proteina u siru mogu da stvaraju biološki aktivne amine.

Rod *Pseudomonas*

Ove bakterije su takođe rasprostranjene u vodi i spoljašnjoj sredini. Sa uvođenjem mašinske muže i čuvanja rashlađenog sirovog mlijeka, ova bakterija pravi veće probleme u mljekarstvu. Najčešći izazivači mana mlijeka su: *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas putrefaciens*, *Pseudomonas fragi* i *Pseudomonas viscosa*. Veoma su izraženi proteoliti i lipoliti. Dovode do pojave gorkog ukusa mlijeka. Razmnožavaju se pri temperaturama 0–37°C, a optimalna temperatura im je 21°C. Nalaz ovih bakterija u pasterizovanom mlijeku ukazuje na nepravilno izvedenu pasterizaciju ili rekontaminaciju pasterizovanog mlijeka.

Rod *Serratia*

U mlijeku se najčešće nalazi *Serratia marcescens*. Raste pri temperaturama 25–30°C. Na mlijeku, pavlaci i kori sira stvara ružičaste i crvene kolonije.

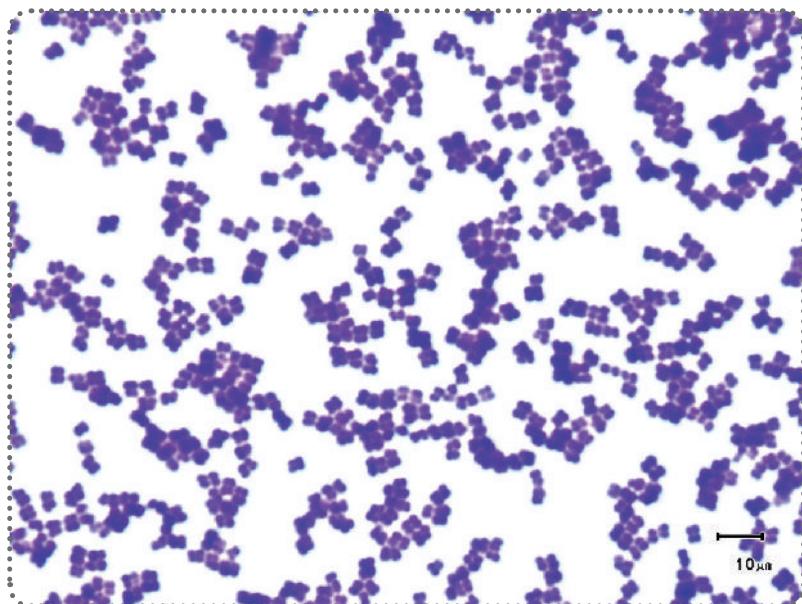
Rod *Alcaligenes*

Ovaj rod obuhvata gram negativne kokoidne štapiće koji se nalaze u proizvodima od mlijeka i digestivnom traktu životinja. Sve vrste iz roda *Alcaligenes* razlažu proteine, što ima za posljedicu pojavu gorkog ukusa.

Rod *Micrococcus*

Mikrokoke su veoma rasprostranjene u prirodi. Veliki broj mikrokoka je termorezistentan, pa se mogu naći u pasterizovanom mlijeku, na opremi i posudama koje se ne peru dovoljno vrućom vodom. Često su prisutne u prerađevinama od mesa, kao i stočnoj hrani. Igraju značajnu ulogu u higijeni i tehnologiji životnih namirnica, gdje svojim produktima i fermentativnim djelovanjem daju proizvodima specifičnu aromu, ukus i boju. Neke vrste mikrokoka stvaraju pigment kojim izazivaju promjene boje sira. Mikrokoke su krupnije bakterije loptastog oblika. Raspoređene su u parove, pojedinačno ili u veće grupe, nekad u obliku paketića. Po Gramu se boje gram pozitivno (slika 258).

Striktni su aerobi. Optimalna temperatura za rast mikrokoka je oko 20°C, ali se razmnožavaju i pri višim i nižim temperaturama (slika 259). Visoko su tolerantne prema sredini u kojoj je koncentracija NaCl 4–10%. Normalna koncentracija NaCl za razmnožavanje bakterija je između 0,5–0,85%. Otporne su na djelovanje temperature. Ukoliko se nalaze u sredini bogatoj mastima, ostaju vitalne i poslije držanja na temperaturi od 70°C. Većina ovih bakterija nije patogena.



SLIKA 258 – *Micrococcus luteus*, bojenje po Gramu, 1000x
(<https://airfreshener.club/quotes/micrococcus-luteus-gram-stain-microscope.html>)



SLIKA 259 – Kolonije *Micrococcus luteus* na hranljivom agaru
(https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/f/fe/Micrococcus_luteus_Standard_I_13-Strich_47.jpg)

Sporogene proteolitičke bakterije

Sporogene proteolitičke bakterije koje se mogu naći u mlijeku su:

- sporogene **aerobne** proteolitičke bakterije iz roda ***Bacillus*** (*B. cereus*, *B. subtilis*, *B. coagulans*, *B. stearothermophilus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus mycoicdes*, *Bacillus brevis*, *Bacillus sphaericus*) i
- sporogene **anaerobne** proteolitičke bakterije iz roda ***Clostridium***.

Sporogene proteolitičke bakterije preživljavaju temperaturu pasterizacije mlijeka.

Sporogene aerobne bakterije iz roda Bacillus

Rod *Bacillus* obuhvata gram pozitivne štapiće koji stvaraju endospore. Intenzivno razlažu proteine, uz stvaranje amonijaka. Razgrađuju i ugljene hidrate, uz stvaranje kiseline, a neke vrste stvaraju i gas. Saprofitski su mikroorganizmi i nalaze se u zemlji i prostirci, odakle dolaze u mlijeko. Značajni predstavnici su *Bacillus cereus* i *Bacillus subtilis*. *Bacillus cereus* tokom razgradnje proteina stvara amine, koji izazivaju nespecifična trovanja ljudi. U mlijeku se ove bakterije takođe vrlo dobro razvijaju i mogu prouzrokovati tzv. „slatko zgrušavanje“ mlijeka i hidrolizu bjelančevina, ukoliko stvaraju enzim sličan himozinu.

Sporogene anaerobne bakterije iz roda Clostridium

Bakterije iz roda *Clostridium* su gram pozitivni, anaerobni, sporogeni štapići. Razlažu bjelančevine i fermentišu laktozu. Fermentacijom laktoze stvaraju buternu i sirčetnu kiselinu, CO_2 , H_2 , CH_4 , alkohole i aceton. Nalaze se u zemljisu, kao i stočnoj hrani, odakle kontaminiraju mlijeko. Zaštita mlijeka od kontaminacije ovim bakterijama je u higijeni proizvodnje mlijeka i hranjenju životinja ispravnom hranom. Broj spora je veći u zimskom periodu zbog ishrane krava silažom. Za higijenu mlijeka najznačajniji su *C. butyricum*, *C. tyrobutyricum*, *C. sporogenes*, koji izazivaju **kasno nadimanje tvrdih sireva**. *C. perfringens* je stanovnik digestivnog trakta životinja, pa njegov nalaz u mlijeku ukazuje na fekalnu kontaminaciju. Stvara toksične supstance.

LIPOLITIČKI MIKROORGANIZMI

Lipolitički mikroorganizmi stvaraju enzime – **lipaze** kojima razlažu mliječnu mast, pri čemu nastaje užegao miris i ukus mlijeka. Najvažnije lipolitičke bakterije su iz rodova: *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Achromobacter*, *Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Escherichia*, *Klebsiella* i *Bacillus*. Većina lipolitičkih mikroorganizama su psihrotrofni i razmnožavaju se u ohlađenom mlijeku. Većina lipaza je termostabilna i svoju aktivnost ispoljavaju i u proizvodima od mlijeku.

MIKROORGANIZAMI KOJI SE MOGU NAĆI U MLIJEKU U ODNOSU NA OPTIMALNU TEMPERATURU POTREBNU ZA NJIHOV RAST I RAZMNOŽAVANJE

U odnosu na optimalnu temperaturu koju zahtijevaju za svoj rast i razmnožavanje, u mlijeku se mogu naći psihrofilni, psihrotrofni, mezofilni, termofilni i termorezisten-tni mikroorganizmi.

Psihrofilni i psihrotrofni mikroorganizmi

Sa uvođenjem hlađenja mlijeka poslije muže, kao i čuvanja mlijeka duže vrijeme na niskim temperaturama, javili su se problemi izazvani psihrotrofnim mikroorganizmima. **Psihrofilni mikroorganizmi** su oni čija je optimalna temperatura rasta na $+15^{\circ}\text{C}$, maksimalna 20°C , a minimalna 0°C i niža. **Psihrotrofni mikroorganizmi** su oni mikroorganizmi koji mogu da se razmnožavaju na ili ispod $+7^{\circ}\text{C}$, a optimalna temperatura im je $20\text{--}30^{\circ}\text{C}$. Psihrotrofni mikroorganizmi su veoma rasprostranjeni u prirodi i obuhvataju bakterije, kvasce i plijesni. Najbrojniju i najvažniju grupu psihrotrofnih mikroorganizama čine gram negativne aerobne bakterije iz rodova: *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*. Od enterobakterija najvažniji psihrotrofi su iz rodova: *Escherichia* (*E. coli*) i *Enterobacter* (*E. aerogenes* i *E. cloacae*). Neki sojevi mikrokoka su takođe psihrotrofi. Psihrotrofne gljive su plijesni rodova: *Geotrichum*, *Penicillium*, *Mucor*, *Cladosporium*, *Fusarium* i kvasci iz rodova: *Candida*, *Cryptococcus* i *Torulopsis*. Kontaminacija mlijeka psihrotrofnim mikroorganizmima nastaje iz vode, prostirke i hrane, nedovoljno opranih i nedezinfikovanih sudova za mlijeko, opreme i pribora za mužu.

Mezofilni mikroorganizmi

Mezofilni mikroorganizmi takođe imaju veliki značaj u mikrobiologiji mlijeka, kao i drugih namirnica. Njihova optimalna temperatura je oko 37°C (temperatura čovječjeg tijela) i većina su patogeni (*E. coli*, *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*). Međutim, mezofilne bakterije mogu da uzrokuju i kvar namirnica, jer se neke mogu razmnožavati u rasponu od 0°C do 45°C (na primjer, *Enterococcus faecalis*).

Termofilni mikroorganizmi

Optimalna temperatura za rast termofilnih bakterija je 55°C – 70°C (primjer: *Geobacillus stearothermophilus* – *Bacillus stearothermophilus*). Ove bakterije sintetišu enzime koji se ne denaturišu pri visokim temperaturama.

Termorezistentni mikroorganizmi

Obuhvataju bakterije koje preživljavaju temperaturu pasterizacije mlijeka (30 minuta, pri $63,5^{\circ}\text{C}$). Najznačajnije termorezistentne bakterije u mlijeku su:

- nesporogene aerobne bakterije iz rodova: *Enterococcus* (*E. faecalis*), *Streptococcus* (*S. thermophilus*), *Microbacterium* (*Microbacterium lacticum*) i *Micrococcus*,
- sporogene aerobne bakterije iz roda *Bacillus* i
- sporogene anaerobne bakterije iz roda *Clostridium*.

KVASCI

Mlijeko se kontaminira kvascima iz spoljne sredine. U mlijeku se nalaze vrste koje su sposobne da **fermentuju lakozu**, naročito *Saccharomyces lactis* i *Torula lactis*. Uglavnom se srijeću u velikom broju u fermentisanim mlijecnim proizvodima i srevima. Njihovo brzo razmnožavanje uslovljeno je višim temperaturama, zato se nalaze u mlijeku i fermentisanim proizvodima od mlijeka za vrijeme toplih ljetnih dana. Pored fermentacije lakoze u alkohol i CO_2 , u stanju su da vrše i djelimičnu **proteolizu bjelančevina**. Zahvaljujući svojim enzimima, kvasci razlažu sastojke mlijeka i tako dovode do njegovog **kvarenja**. Ukoliko se naglo razviju u mlijeku ili pavlaci, mogu izazvati nadimanje i prskanje kanti.

Neke vrste kvasaca izazivaju zapaljenje vimena – **mastitis**, tako da i na taj način mogu dospjeti u mlijeko. Kvasci su acidofilni i razmnožavaju se pri pH 4–5. Pošto **smanjuju kiselost sredine**, stvaraju uslove za razvoj proteolitičkih bakterija i ubrzavaju zrenje sireva. Za mlijekarstvo su značajni kvasci iz rođova: *Saccharomyces*, *Torulopsis*, *Mycoderma* i *Candida*.

Saccharomyces lactis je najznačajnija vrsta iz ovog roda. Razlaganjem šećera stvara **alkohol**. Koristi se u proizvodnji kefira i kumisa. U maslacu i svježem siru ovi kvasci dovode do pojave gorkog ukusa. Često se nalaze u prirodi.

Kvasci iz roda *Torulopsis* učestvuju u stvaranju karakterističnih organoleptičkih osobina kefira.

Kvasci iz roda *Mycoderma* stvaraju pokožicu na površini pavlake. Na površini sira smanjuju kiselost i tako ubrzavaju zrenje sireva. U većem broju mogu izazvati **razmekšavanje sirnog tjesteta**.

Candida nigra stvara **crne pjegе** na površini ementskog sira, a *Candida lipolytica* izaziva **užeglost**. *Candida kefir* se upotrebljava za proizvodnju kefira. Kao uzročnici mastitisa krava, najznačajnije su: *Candida albicans*, *Candida tropicalis* i *Cryptococcus neoformans*.

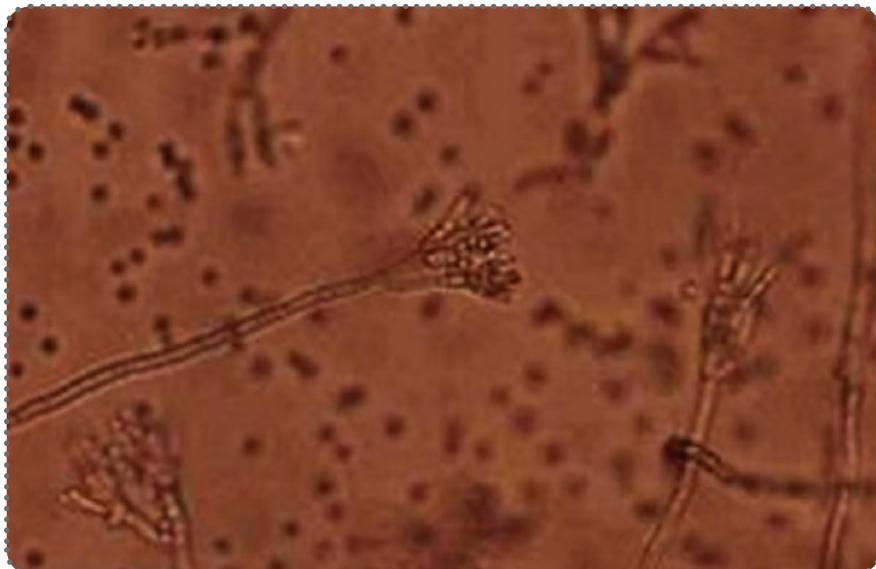
PLIJESNI

Plijesni se rjeđe nalaze u mlijeku, ali se zato, po pravilu, uvijek nalaze u proizvodima od mlijeka, naročito maslacu, kajmaku i srevima. Većini vrsta pljesni za razmnožavanje pogoduje **povišena kiselost**. Aktivno **razlažu ugljene hidrate, masti**, a neke pljesni razlažu i **bjelančevine**. Najznačajnije su vrste iz rođova: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Oidium*, *Sporotrichum*, *Mucor*, *Thamnidium*, *Cladosporium*, *Geotrichum*, a

rjeđe se javljaju: *Monilia*, *Rhizopus*, *Fusarium* i *Trichothecium*. Optimalna temperatura za većinu pljesni je iznad 18°C, ali se dosta dobro razvijaju i na nižim temperaturama. U mljekarstvu mogu imati različitu ulogu. Neke vrste su štetne, jer izazivaju **kvarenje** mlijeka i proizvoda od mlijeka ili stvaraju **toksine** koji štetno djeluju na zdravlje ljudi. S druge strane, neke vrste pljesni su korisne i upotrebljavaju se u **proizvodnji sira**, zato što poboljšavaju njegov ukus. Suzbijanje pojave pljesni u prostorijama za preradu mlijeka se postiže smanjivanjem vlažnosti u prostorijama, provjetravanjem i sterilizacijom uređaja.

Rod Penicillium

Neke vrste iz roda *Penicillium* (slika 260) su **štetne**, jer izazivaju kvar proizvoda od mlijeka, dok su druge **korisne** i upotrebljavaju se za proizvodnju sireva. Posebne vrste pljesni iz roda *Penicillium* utiču na tok zrenja sireva i pojavu nekih jedinjenja koja poboljšavaju ukus i miris sira. Od korisnih vrsta ovog roda pljesni značajni su: *P. camemberti* – plava pljesan, koja se koristi za proizvodnju sira **kamember i bri**, *P. candidum* – bijela pljesan, koja se takođe koristi za proizvodnju sira kamember, *P. roqueforti* – plavozelena pljesan, koja se koristi za proizvodnju plavih sireva, kao što su **rokfor, stilton, gorgonzola** i dr.



SLIKA 260 – *Penicillium spp.*, nađen u stočnoj hrani, nativni preparat
(Bojanić–Rašović)

Rod Aspergillus

Plijesni iz ovog roda su štetne. Neke su patogene za ljude i životinje. *Aspergillus niger* i *Aspergillus glaucus* se često mogu naći u mlijeku, odakle dospijevaju iz spoljašnje sredine. U određenim uslovima stvaraju mikotoksine koji djeluju veoma štetno na zdravlje ljudi.

Rod Cladosporium

Plijesni ovog roda na kori sira stvaraju smeđecrne pjege.

Rod Geotrichum

Najpoznatija vrsta iz ovog roda je *Geotrichum candidum* (*Oospora lactis*) ili bijela mlijecna pljesan. Često se viđa na površini bijelog sira u vidu pokožice. Razmnožava se na temperaturi od 0 do 37°C, a optimalna temperatura je 20°C.

MANE MLJEKA IZAZVANE MIKROORGANIZMIMA

Promjene fizičkih, hemijskih i organoleptičkih osobina mlijeka, izazvane mikroorganizmima, nazivaju se **mane mlijeka**. Najčešće mane mlijeka izazvane mikroorganizmima su: mane konzistencije, ukusa, mirisa i boje mlijeka.

Mane konzistencije mlijeka

Najčešće mane konzistencije mlijeka su sluzavost i slatko zgrušavanje mlijeka.

Sluzavost mlijeka izazivaju bakterije koje stvaraju kapsulu. Prouzrokovači sluzavosti, uz povećanje kiselosti mlijeka, su *Enterobacter aerogenes* i *Enterobacter cloacae*. Ove vrste se razvijaju i na nižim temperaturama, pri čemu obilno stvaraju kapsule. Sluzavo mlijeko ima neprijatan miris i ukus. *Alcaligenes viscolactis* i *Micrococcus freudenreichii* izazivaju sluzavost mlijeka sa pojavom alkalne reakcije.

Slatko zgrušavanje mlijeka se javlja najčešće kod kuvanog, pasterizovanog i sterilisanog mlijeka, rijetko kod sirovog mlijeka. Prouzrokovači ove mane su sporogene bakterije: *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus calidolactis*. Pored sporogenih vrsta bakterija, slatko zgrušavanje mlijeka mogu da izazovu i neke termorezistentne vrste mikrokoka, koje stvaraju proteolitičke fermentne slične himozinu. Usljed razlaganja bjelančevina mlijeko dobija gorak ukus.

Mane ukusa i mirisa mlijeka

Mane ukusa i mirisa mlijeka mogu da se javе samostalno ili zajedno sa drugim mnama. **Gorko mlijeko** uglavnom uzrokuju sporogeni i asporogeni oblici proteolitičkih bakterija. **Alkalni – sapunasti ukus** mlijeka takođe uzrokuju bakterije koje razlažu bjelančevine (*Pseudomonas fluorescens*, *Alcaligenes faecalis*, *Alcaligenes viscolactis*, *Micrococcus ureae*). Neprijatni mirisi mlijeka, koji podsjećaju na staju za stoku, nastaju uslјed razvića koliformnih bakterija.

Mane boje mlijeka

Mane boje mlijeka uzrokuju mikroorganizmi koji stvaraju pigmente. Pojavu **plavo-obojenog mlijeka** izaziva *Pseudomonas syncyanea* i aktinomicete, **žutog mlijeka** – *Pseudomonas synxantha*, pojedinačnih žutih mrlja na površini mlijeka – *Sarcina lutea* i *Micrococcus luteus*. **Blijedožutu** boju mlijeka daju i neke vrste *Flavobacterium*. Do pojave **crvene boje** mlijeka dolazi uslјed razmnožavanja mikroorganizama, kao što su: *Serratia*, *Micrococcus roseus*, *Torula rosei*.

Mikroorganizmi koji uzrokuju mane mlijeka najčešće potiču iz nežive prirode (baliga, voda, posude za mlijeko). Zato se zaštita mlijeka od pojave mana može, uglavnom, izvršiti sprečavanjem kontaminacije mlijeka mikroorganizmima, odnosno adekvatnom higijenom u procesu dobijanja, transporta i obrade mlijeka.

PRENOŠENJE UZROČNIKA ZARAZNIH BOLESTI I UZROČNIKA TROVANJA MLJEKOM

Mlijeko može biti prenosilac patogenih mikroorganizama, ukoliko potiče od bolesnih životinja ili je došlo do njegove kontaminacije iz spoljašnje sredine. Patogeni mikroorganizmi koji potiču od životinja su:

- *Mycobacterium tuberculosis* – uzročnik tuberkuloze,
- *Streptococcus agalactiae* – uzročnik zaraznog presušenja vimena, najčešće se sa životinje na životinju prenosi rukama muzača ili mašinama za mužu, pa se dezinfekcija vimena, ruku muzača i mašina za mužu smatra jednom od najvažnijih mjera za sprečavanje širenja ove bolesti,
- *Staphylococcus aureus*,
- *Escherichia coli*,
- *Arcanobacterium pyogenes*,
- *Brucella* (zarazni pobačaj – brucelozu),

- *Coxiella burnetti* (rikecija, izaziva Q groznicu) i
- *Listeria monocytogenes*.

Patogeni mikroorganizmi koji potiču od ljudi su: *Salmonella* (izaziva trbušni tifus), *Shigella*, *Escherichia coli*, *Streptococcus pyogenes* (uzročnik šarlaха), *Mycobacterium tuberculosis* i virusi (izazivaju bolesti slinavku i šap, kravljе boginje i dr.). Pored mikroorganizama – uzročnika zaraznih bolesti, mlijekom se mogu prenositi i specifični i nespecifični trovači hrane na druge životinje i ljude. Zato se strogo moraju sprovoditi mjere koje obezbjeđuju očuvanje zdravlja muznih životinja i higijenske mjere u procesu dobijanja, obrade i transporta mlijeka do potrošača.

ZNAČAJ KORISNIH MIKROORGANIZAMA U PRERADI MLIJEKA

U preradi mlijeka mikroorganizmi imaju veoma važnu ulogu. Dobijanje fermentisanih proizvoda od mlijeka zasniva se na biohemijskoj aktivnosti **bakterija mliječne kiseline**. U izradi nekih drugih proizvoda od mlijeka npr. pavlake, maslaca, kajmaka i sireva, biohemijска aktivnost mikroorganizama dopunjaje tehnološke operacije u proizvodnji ovih namirnica. Mikroorganizmi naročito doprinose formiranju specifičnog ukusa i mirisa, izgleda, konzistencije, boje, boljоj svarljivosti, konzervisanju itd. U tom pogledu, pored transformacija mliječnog šećera, od posebnog su značaja razlaganja bjelančevina u niz novih jedinjenja, koja su u vodi rastvorljiva i koja proizvodima od mlijeka daju sasvim nov i specifičan karakter.

Primjena mikroorganizama u preradi mlijeka je neophodna. Korisni mikroorganizmi se održavaju u čistim kulturama i proizvode u velikim količinama za potrebe mljekara (bakterije mliječne kiseline, bakterije propionske kiseline, neke vrste pljesni iz roda *Penicillium*, kvasci). Biohemijkska djelatnost mikroorganizama veoma je značajna za tok biohemiskih procesa pri podsiravanju mlijeka, obradi gruša i formiranju homogenog tijesta svježih sireva. Mikroorganizmi su, dalje, veoma značajni u biohemiskim procesima transformacija pojedinih sastojaka sira u procesu „zrenja“ sireva. Tokom zrenja nastaju nova jedinjenja koja mijenjaju izgled, konzistenciju, ukus i miris sira. Transformacija bjelančevina i njihovih proizvoda smatra se kao najkarakterističniji hemijski proces u zrenju sireva.

Transformacijom aminokiselina nastaju organske kiseline, amini, amonijak, razna sumporna organska i neorganska jedinjenja, CO_2 , H_2 i drugi gasovi.

STARTER KULTURE MIKROORGANIZAMA U MLJEKARSTVU

U svakodnevnoj praksi čiste kulture mikroorganizama, za koje se često upotrebljava naziv „maja“ (engleski naziv *starter*), dodaju se da **pokrenu**, podstaknu određeni biohemski proces, najčešće neko vrenje. Postoje starteri za proizvodnju: kiselog mlijeka i jogurta, kefira, kumisa i drugih fermentisanih napitaka, pavlake, maslaca, sireva. Svaki od ovih startera sadrži jedan ili više sojeva jedne vrste mikroorganizama, zatim mješavinu dva ili više sojeva različitih vrsta.

Starter za izradu kiselog mlijeka i jogurta se sastoji od mješavine čistih kultura dvije vrste bakterija: *Lactobacillus bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus*. Starter za proizvodnju kefira se sastoji od mješavine više vrsta mikroorganizama: *Lactobacillus caucasicus*, *Lactococcus lactis* i *Candida kefir*. Njihove ćelije slijepljene su u želatinoznu mekanu masu, koja ima izgled nabubrelih sitnijih i krupnijih zrnaca (zato se ovaj starter često naziva „kefirnim zrnima“). Starter za pavlaku i maslac čine: *Lactococcus cremoris*, *Streptococcus citrovorus* i *Streptococcus paracitrovorus*. Za izradu tvrdih sireva tipa ementalskog sira upotrebljava se starter u kome se nalazi mješavina dvije vrste bakterija mlijecne kiseline: *Lactobacillus helveticus* i *Streptococcus thermophilus*. Za druge vrste tvrdih i polutvrđih sireva, kod kojih se zagrijevanje gruša vrši na nižoj temperaturi, upotrebljavaju se kao starter čiste kulture: *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactococcus lactis*, *Lactococcus cremoris*, *Streptococcus citrovorus*.

ZNAČAJ NEPOŽELJNIH MIKROORGANIZAMA U PRERADI MLJEKA

Mikroorganizmi u proizvodima od mlijeka, zahvaljujući svojoj biohemskoj aktivnosti, mogu da budu i **štetni**, jer stvaraju takva jedinjenja koja utiču na pojavu neprijatnog ukusa i mirisa, promjenu izgleda, boje, konzistencije proizvoda od mlijeka i čine ih neupotrebljivim za ishranu. Takođe, neki od tih mikroorganizama mogu da izazovu bolesti ljudi i životinja. Od nepoželjnih mikroorganizama koji dospijevaju u proizvode od mlijeka, naročito treba imati u vidu: **koliformne bakterije, bakterije buterne kiseline, patogene bakterije i bakterije trovače hrane**. Izvori iz kojih ovi mikroorganizmi dospijevaju u proizvode od mlijeka veoma su brojni: mlijeko (nepasterizovano), sirilo, pribor, alat i oprema, kalupi za sireve, ruke i odjeća radnika, vazduh, voda, kuhinjska so itd.

TEHNOLOGIJA PROIZVODNJE MLJEČNIH PROIZVODA

Tehnologija proizvodnje kisjelog mlijeka i jogurta

Sirovo mlijeko se pasterizuje na 80–90°C, ohladi na 45–48°C i doda starter u količini 1,5–2%. Ukišjeljavanje mlijeka traje oko 2 časa. Za dobijanje kisjelog mlijeka i jogurta koriste se iste vrste bakterija mlječne kisjeline. Za razliku od kisjelog mlijeka, jogurt se poslije ukisjeljavanja i hlađenja homogenizira i prevodi u gusto stanje. Sam proces ukisjeljavanja sastoji se u tome što bakterije mlječne kisjeline transformišu mlječni šećer u mlječnu kisjelinu. Mliječna kisjelina sa kalcijumom iz kalcijum kazeinata stvara laktate. Usljed izdvajanja kalcijuma, molekuli kazeina se grupišu u micele, koje se međusobno spajaju. Na taj način, mlijeko iz tečne faze prelazi u gel, polučvrsto, pihtijasto stanje.

Tehnologija proizvodnje kefira

Kefir se izrađuje na taj način što se kravlje mlijeko prethodno pasterizuje, zatim ohladi na temperaturu 20–22°C i unesu kefirna zrna. Kefirna zrna ostaju u mlijeku 8–10 časova, poslije čega se cijedenjem mlijeka izdvoje (slika 261) a mlijeko nalije u boce koje se čvrsto zatvore. Mlijeko se u bocama ostavlja 2–3 dana na temperaturi od 16–18°C u položenom položaju, da bi se fermentacija dovršila i kefir sazrio. U transformaciji mlijeka u kefir (slika 262), pored bakterija mlječne kisjeline, učeštuju i kvasci, pa se pored mlječnog vrenja u isto vrijeme odvija i alkoholno vrenje mlječnog šećera. Usljed toga, etilalkohol i CO₂ daju kefiru specifičan ukus i miris, s jače izraženom nijansom reskosti i osvježavajućim dejstvom. Smatra se da je kefir hranljiviji i da se bolje apsorbuje u organima za varenje nego jogurt i kisjelo mlijeko. Kefirna zrna su bogata bjelančevinama i vitaminima B grupe.



SLIKA 261 – Cijedenje kefirnih zrna
(<http://www.zurnal24.si/probiotik–brez–aditivov–clanek–218980>)



SLIKA 262 – Kefir
(<https://www.gastrosenses.com/blog/fluffy–kefir–pancakes/>)

Tehnologija proizvodnje kumisa

Kumis je sličan proizvod kefiru, s tom razlikom što se priprema od kobiljeg mlijeka. U previranju mlijeka učestvuju bakterije mlijecne kisjeline *Lactococcus lactis* i *Lactobacillus casei* (ili *Lactobacillus bulgaricus*), a od kvasaca vrste iz roda *Torula*.

Acidofilno mlijeko

Acidofilno mlijeko je proizvod koji je po izgledu i načinu proizvodnje sličan jogurtu. Za ukisjeljavanje mlijeka koristi se *Lactobacillus acidophilus*. Primjenjuje se u liječenju crijevnih oboljenja (proliva itd.).

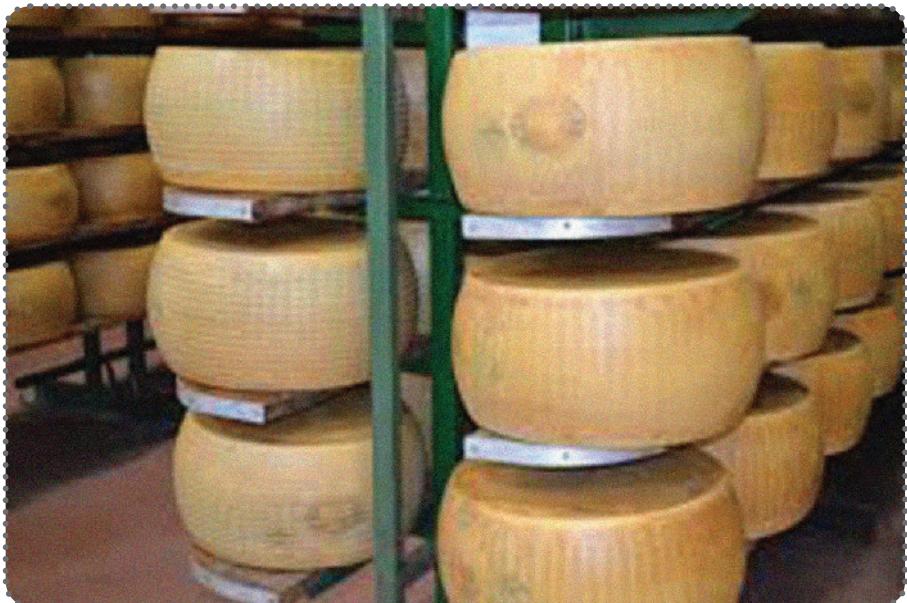
Tehnologija proizvodnje sira

Sirevi se dobijaju zgrušavanjem bjelančevina mlijeka i djelimičnim izdvajanjem surutke iz gruša. Bjelančevine mlijeka se djelovanjem enzima sirila razlažu na najmanje dvije frakcije: kalcijumparakazeinat (koji čini gruš) i rastvorljivu frakciju koja prelazi u surutku (surutkin protein). Način obrade gruša i dalji postupak sa srevima u procesu zrenja ima veliki uticaj na razviće mikroflore u njima i na formiranje konzistencije, izgleda, ukusa i mirisa sreva. Proizvodnja sira se odvija kroz nekoliko tehnoloških operacija: priprema mlijeka za podsiravanje (cijedjenje ili prečišćavanje mlijeka centrifugalnim separatorom, pasterizacija mlijeka, dozrijevanje mlijeka, zagrijavanje mlijeka na temperaturu podsiravanja), podsiravanje mlijeka, obrada gruša, presovanje gruša i oblikovanje sira, soljenje sira i zrenje sira. Prema sadržaju vlage i čvrstini tijesta, srevi se dijele na: tvrde (slike 263 i 264), polutvrde i meke sreve.



SLIKA 263 – Soljenje tvrdog sira *Parmigiano Reggiano* (Parmidano Redano) u rastvoru soli

(<http://muchmoremuchier.com/2011/05/02/parmigiano-reggiano-and-parma-ham-factories>)



SLIKA 264 – Zrenje tvrdog sira *Parmigiano Reggiano* u komori za zrenje

(<http://muchmoremuchier.com/2011/05/02/parmigiano-reggiano-and-parma-ham-factories>)

MIKROBIOLOŠKE MANE SIREVA

Svaka vrsta sira ima karakterističan hemijski sastav i organoleptička svojstva. Ukoliko tokom zrenja dođe do razmnožavanja nepoželjnih mikroorganizama, dolazi do promjene karakterističnih organoleptičkih osobina sira. Mikroorganizmi mogu dovesti do promjene boje, mirisa, ukusa, konzistencije, kao i nadimanja sireva. Može da se javi tzv. **rano i kasno nadimanje sireva**. Rano nadimanje počinje još u vremenu dok se gruš sira nalazi pod presom, ili odmah po presovanju i soljenju. Najčešće ga izazivaju koliformne bakterije. Kasno nadimanje sireva se javlja uglavnom kod tvrdih sireva, kod kojih zrenje traje duže i koji na površini imaju formiranu čvrstu koru. Ovo nadimanje uzrokuju uglavnom bakterije buterne kiseline, kao što su: *Clostridium sporogenes*, *Clostridium lentoputrescens*, *Clostridium pasterianum*, *Clostridium butyricum* i dr.

PITANJA

1. Koje je prirodno stanište mikroorganizama?
2. Koji su izvori kontaminacije mlijeka mikroorganizmima?
3. Koji se mikroorganizmi mogu naći u mlijeku?
4. Od čega zavisi brzina razmnožavanja mikroorganizama u mlijeku?
5. Koje mane mlijeka mogu izazvati mikroorganizmi?
6. Koje bakterije i u kojim slučajevima izazivaju „slatko zgrušavanje“ mlijeka?
7. Kako se može sprječiti nastajanje mana mlijeka?
8. Na koji način je mlijeko prenosilac patogenih mikroorganizama?
9. Navedi neke patogene mikroorganizme koji se mogu naći u mlijeku, a potiču od bolesne životinje.
10. Navedi neke patogene mikroorganizme kojima se mlijeko kontaminira iz spoljašnje sredine.
11. Koje su bakterije trovači hrane?
12. Koja je uloga mikroorganizama u preradi mlijeka?
13. Koji se mikroorganizmi nalaze u kefirnom zrnu?
14. Objasni proces dobijanja fermentisanih proizvoda od mlijeka.
15. Koji su izvori kontaminacije sireva mikroorganizmima?
16. Koji je značaj mikroorganizama u proizvodnji sireva?
17. Koje su tehnološke operacije u proizvodnji sireva?
18. Koje su najčešće mikrobiološke mane sireva?

..... MIKROBIOLOGIJA MESA I PROIZVODA OD MESA

Meso i proizvodi od mesa su **veoma pogodna sredina** za razmnožavanje velikog broja različitih vrsta mikroorganizama. Svojom metaboličkom aktivnošću mogu da izazovu hemijske promjene bjelančevina i masti koje dovode do **kvara mesa**, a patogeni mikroorganizmi izazivaju **bolesti**. Neki mikroorganizmi djeluju **korisno**, tako što poboljšavaju aromu i boju proizvoda od mesa.

PORIJEKLO MIKROORGANIZAMA U MESU

Kod živih životinja mikroorganizmi se nalaze na koži, dlakama i u otvorima koji neposredno komuniciraju sa spoljnom sredinom (organi za varenje, nos, grlo, pluća, spoljni djelovi mokraćnih i polnih organa). Svi ostali djelovi, ako je životinja zdrava, su sterilni, tj. slobodni od mikroorganizama. Nalaz bakterija saprofita u krvi i tkivima može da bude prouzrokovao velikom zamorenošću životinja pred klanje. U tom slučaju, dolazi do prodiranja bakterija iz organa za varenje u krv i njihovog raznošenja po organizmu.

Mikroorganizmi mogu dospjeti u meso i mesne prerađevine na više načina: **premortalno** (prije klanja), **tokom klanja**, odnosno iskrvarenja i **postmortalno** (poslije klanja, tokom obrade, prerade, skladištenja i prometa). Prije klanja, mikroorganizmi mogu dospjeti u meso, ukoliko je zaklana životinja bila bolesna od neke zarazne bolesti. To se najčešće dešava uslijed zaraznih bolesti septikemičnog karaktera ili sepse. Najveći praktični značaj ima postmortalna kontaminacija mesa.

GLAVNI IZVORI MIKROORGANIZAMA U SVJEŽEM MESU

Glavni izvori mikroorganizama u mesu su: same životinje, alat i pribor za klanje i obradu mesa, voda za šurenje i pranje, krpe za brisanje, radnici, vazduh, oprema u klanicama i hladnjacama i dr. Na koži se nalaze sporogene bakterije (iz roda *Clostridium*: *Clostridium sporogenes*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium putrefaciens* idr.), koje imaju ulogu u kvarenju mesa. Ove bakterije stvaraju i toksine u mesu i tako dovode do trovanja ljudi i životinja. Nepažljivo i nestručno vađenje organa, na-

ročito oštećenje crijeva i želuca, dovodi do izliva crijevnog sadržaja i masovnog zagađenja mesa vrlo štetnim truležnim bakterijama. Patogeni mikroorganizmi se mogu naći u mesu u slučaju klanja bolesnih životinja ili ako se meso kontaminira nakon klanja stoke iz spoljašnje sredine.

POSLJEDICE AKTIVNOSTI MIKROORGANIZAMA U MESU

S obzirom na hemijski sastav mesa i proizvoda od mesa, kao i načine dobijanja, čuvanja i upotrebe mesa i proizvoda od mesa, aktivnost mikroorganizama značajno utiče na kvalitet, postojanost i upotrebljivost mesa kao hrane ili sirovine za prerađu. Poznavanje mikroorganizama u mesu i proizvodima od mesa značajno je zbog njihovog uticaja na fizička i hemijska svojstva mesa, što se manifestuje promjenom njegovog izgleda, konzistencije, ukusa i mirisa. Pored toga, mesom se mogu prenijeti i patogeni mikroorganizmi i trovači hrane.

DINAMIKA RAZMNOŽAVANJA MIKROORGANIZAMA U SVJEŽEM MESU

Meso sadrži bjelančevine, ugljene hidrate, organske kiseline, neorganske soli, vitamine, enzime, koji zajedno predstavljaju odličan supstrat za razmnožavanje mikroorganizama. Za razliku od mlijeka, u mesu ne dolazi odmah do razmnožavanja mikroorganizama, s jedne strane zbog prisustva velikih molekula bjelančevina u nativnom stanju, koje mikroorganizmi teško razlažu, a s druge strane, zbog povećanja kiselosti u procesu transformacije glikogena u anaerobnim uslovima. Mikroorganizmi se ubrzano razmnožavaju u mesu tek po završetku *rigor mortis-a*, kada se povećava sadržaj rastvorljivih azotnih i drugih jedinjenja u mesu.

Tokom mlječne fermentacije šećera – glikogena dolazi do oslobođanja energije i sinteze ATP-a. Energija ATP-a se koristi za sjedinjavanje miozina i aktina u aktomiozin. Usljed nedostatka kiseonika ne dolazi do oksidacije mlječne kiseline stvorene tokom mlječne fermentacije, nema novih molekula ATP-a i nema energije neophodne za mišićni mehanički rad. Aktomiozin se skuplja, prouzrokujući opšte očvršćavanje i uokćenost mesa. Djelovanjem **mlječne kiseline** vrši se djelimično zgrušavanje bjelančevina u mišićnim ćelijama. Usljed **denaturacije proteina** dolazi do izdvajanja vode, a s njom i do oslobođanja enzima ćelija, koji prelaze u rastvore. Na ovaj način, stvoreni su uslovi za dejstvo enzima van ćelija u pravcu opšte hidrolize jedinjenja velikih mole-

kula i do povećanja rastvorljivih azotnih jedinjenja u mesu. Proces djelimične autolize postepeno dovodi do smanjenja *rigor mortis-a* i ponovnog omekšavanja mišića.

Po završetku *rigor mortis-a*, meso je mnogo pogodnija sredina za mikroorganizme. U njemu ima dovoljno rastvorljivih azotnih i ugljenikovih jedinjenja za nesmetan razvoj bakterija i gljiva. Koje će vrste i sojevi ovih mikroorganizama prvo da se razmnože zavisi prvenstveno od njihove otpornosti prema kisijeloj reakciji. Što proces hidrolize bjelančevina više napreduje, osobada se, pored drugih jedinjenja, i amonijak koji neutrališe kisjelu reakciju mesa i pH se ponovo približava neutralnoj tački, ili čak reakcija postaje slabo alkalna. Ova promjena pH je jedan od znakova ne samo bolje pogodnosti mesa za razmnožavanje mikroorganizama, nego i vrlo aktivne mikrobiološke aktivnosti u razlaganju bjelančevina mesa.

FAKTORI KOJI UTIČU NA RAZMNOŽAVANJE MIKROORGANIZAMA U SVJEŽEM MESU

Razmnožavanje mikroorganizama u sirovom mesu zavisi od niza činilaca: vrste bakterija i enzima sa kojima raspolažu, temperature mesa, sadržaja vlage na površini mesa i okolnoj atmosferi, pH mesa, vrste mesa i dr. U mesu se, prije svega, razvijaju bakterije koje raspolažu enzimima tipa proteaza, peptidaza i amidaza, kojima se hidrolitički razlažu proteini, polipeptidi i aminokiseline.

METODE ZA DOKAZIVANJE RASTA I RAZMNOŽAVANJA MIKROORGANIZAMA U MESU

Razmnožavanje mikroorganizama u mesu može se utvrditi na više načina:

- mikroskopskim pregledom brisa ili zasijavanjem na hranljive podloge;
- promjenom izgleda površine mesa;
- promjenom boje, ukusa, mirisa i konzistencije.

Mikroskopskim pregledom i zasijavanjem uzorka u hranljive podloge mogu se utvrditi najraniji počeci razmnožavanja mikroorganizama i pratiti povećanje njihovog broja sve do promjene izgleda, boje i drugih osobina mesa, koje se mogu zapaziti čulima bez upotrebe optičkih ili drugih instrumenata.

KVAR MESA (TRULJENJE MESA)

Kvar mesa izazivaju u prvom redu bakterije, i to, uglavnom, **truležne**, koje vrše razgradnju proteina. Zbog toga se truležne bakterije nazivaju i **proteolitičke**. Usljed njihovog dejstva dolazi do promjene organoleptičkih osobina mesa, ali može doći i do stvaranja gasova neprijatnog mirisa. Proteine razgrađuju najprije do molekula manje molekulske mase, polipeptida, a zatim do peptida i aminokisjelina. Aminokisjeline razgrađuju do amonijaka, ugljendioksida, indola, skatola, putrescina, kreatina itd.

Posebno je značajno stvaranje **biogenih amina** koji nastaju dekarboksilacijom aminokisjelina. Izazivaju intoksikacije kod ljudi, tzv. nespecifična trovanja mesom. Zovu se biogeni amini, jer ih stvaraju živa bića, tj. bakterije. Najvažniji su histamin, neurin, muskarin i sepsin. Izazivaju neprijatan miris. Histamin je vrlo otrovan. Razlaganje bjelančevina tokom kvara mesa izazivaju bakterije iz rodova: *Micrococcus*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Bacillus* i *Clostridium* (dubinsko truljenje), kvasci i pljesni (površinsko truljenje).

Znaci kvara mesa

Pojava **sluzi na mesu** je najsigurniji znak kvarenja mesa. Ukoliko je temperatura viša, utoliko se sluz na mesu pojavljuje za kraće vrijeme. Takođe se sluz pojavljuje znatno brže ako je ukupan broj bakterija na mesu veći. Bakterije koje stvaraju sluz su različite, zavisno od temperature mesa i prvobitne kontaminacije mesa bakterijama. Ako se meso čuva na višim temperaturama, preovlađuju bakterije iz roda: *Proteus* (oko 50%), *Micrococcus* (oko 40%) i *Achromobacter* (oko 10%). Ako je temperatura niža, broj vrsta iz roda *Achromobacter* se povećava i pojavljuju se bakterije iz roda *Pseudomonas*, a smanjuje se broj vrsta iz roda *Proteus*. Na sasvim niskim temperaturama preovlađuju bakterije iz roda *Pseudomonas* i *Achromobacter*.

U svježem mesu mogu nastati **žute mrlje** od kolonija obojenih mikrokoka (*Micrococcus citreus*), **smeđecrne mrlje** od pljesni (*Cladosporium herbarum*), **bijele mrlje od pljesni** (*Sporotrichum carnis*, *Penicillium spp.* i dr.).

BAKTERIJE KOJE UZROKUJU TROVANJE MESOM

Bakterije koje mogu da izazovu trovanje mesom, dijele se u dvije grupe:

Specifični (obligatni, klasični) trovači su one bakterije za koje se pouzdano zna da posjeduju sopstvene toksine. To su: salmonele, enterotoksogene stafilokoke i *Clostridium botulinum*.

Nespecifični (fakultativni) trovači su bakterijske vrste koje ne posjeduju specifičan toksin, ali se otrovne materije stvaraju u mesu kao posljedica njihove aktivnosti. Ovoj grupi pripadaju, prije svega, proteolitske bakterije.

METODE UNIŠTAVANJA I SPREČAVANJA RAZMNOŽAVANJA MIKROORGANIZAMA U MESU

Uništavanje ili sprečavanje razmnožavanja mikroorganizama u mesu mogu se postići podvrgavanjem mesa dejstvu različitih činilaca, kao što su:

- **Fizički činioci:** niske temperature (hlađenje, smrzavanje), visoke temperature (izrada polukonzervi i konzervi od mesa), sušenje;
- **Hemijski činioci:** soljenje, salamurenje;
- **Fizičko-hemijski činioci:** dimljenje.

Za sprečavanje kontaminacije mesa i proizvoda od mesa je veoma važno sprovoditi neophodne higijenske mjere u proizvodnji i preradi.

DEJSTVO NISKIH TEMPERATURA NA MIKROFLORU MESA I PROIZVODA OD MESA

Temperatura je jedan od najznačajnijih ekoloških faktora koji utiče na razviće mikroorganizama uopšte, pa samim tim i na njihov razvoj u mesu. Broj, kao i vrsta mikroorganizama na površini mesa prvenstveno zavise od temperature. Na niskim temperaturama, bliskim tački smrzavanja, razvijaju se **psihrofilni mikroorganizmi**. Na temperaturi od 0 do 5°C razvijaju se prvenstveno gram negativni štapići iz roda *Pseudomonas*, zatim gram pozitivne koke, a kasnije i hromogene bakterije i kvasci. Ako je temperatura nešto viša (10–15°C), pored navedenih vrsta, razvijaju se i sporogene vrste bakterija. Hromogene i fluorescentne bakterije javljaju se tek poslije 5 dana čuvanja mesa i u tim slučajevima čine 10–25% od ukupne mikroflore mesa. Smrzavanje mesa primjenjuje se za čuvanje mesa duži vremenski period. Prilikom smrzavanja dolazi do djelimičnog izdvajanja vode iz mišićnog tkiva, obrazovanja kristala leda i djelimičnog zgrušavanja bjelančevina mesa uslijed izdvajanja vode.

U mikroflori, koja preživljava dugi period smrzavanja, najveći broj su psihrofilne asporogene bakterije (80%), a zatim sporogene bakterije (20%). Važno je istaći da patogene bakterije i trovači hrane preživljavaju u mesu čuvanom na niskim temperaturama, pa čak i u smrznutom mesu.

DEJSTVO VISOKIH TEMPERATURA NA MIKROORGANIZME MESA I PROIZVODA OD MESA

Za razliku od niskih temperaturama koje usporavaju ili potpuno zaustavljaju mikroorganizme u razmnožavanju i djelimično ih ubijaju, visoke temperature uništavaju mikroorganizme. Efikasnost dejstva temperature na mikroorganizme zavisi od visine temperature i vremena njenog trajanja, vrste mikroorganizama na koje djeluje, hemijskog sastava mesa ili proizvoda od mesa, ukupnog broja mikroorganizama u mesu i dr.

DEJSTVO SUŠENJA NA MIKROORGANIZME MESA I PROIZVODE OD MESA

Na sušenim proizvodima mikroorganizmi ostaju u životu, ali je zaustavljena njihova biohemija aktivnost uslijed nedostatka vode (vlažnost ispod 18–20%). Mesu i proizvodi od mesa ostaju nepromijenjeni, sve dok se sadržaj vode u njima ne poveća, ili dok se ne poveća relativna vlažnost okolne sredine (iznad 75%).

DEJSTVO SOLJENJA I SALAMURENJA NA MIKROORGANIZME MESA I PROIZVODE OD MESA

Obrada mesa kuhinjskom soli zove se soljenje, a solima za salamurenje – salamurenje mesa. Soli za salamurenje su homogene mješavine soli, nitrita i/ili nitrata. Mesu se može posipati suvom mješavinom soli (slika 265) ili potapati u vodenim rastvorima soli.



SLIKA 265 – Soljenje pršuta (šunke)
(<https://parmacrown.com/making-prosciutto>)

Kuhinjska so i nitriti inhibiraju rast mnogih aerobnih i anaerobnih bakterija, uključujući i *Clostridium botulinum* i vrste koje izazivaju kvar mesa. Međutim, u rastvoru za soljenje se može naći veliki broj bakterija otpornih na visoke koncentracije soli. Najviše ima okruglih bakterija iz roda *Micrococcus*, ali se mogu naći i neke bakterije mliječne kiseline (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Leuconostoc* i dr.), kao i *E. coli*, *Pseudomonas spp.*, *Proteus spp.*, *Bacillus spp.*, *Sarcina spp.* i dr. Mikroorganizmi salamure utiču na snižavanje pH salamure, učestvuju u redukciji nitrata u nitrite i tako povećavaju baktericidno dejstvo salamure i bolju fiksaciju crvene boje mesa.

UTICAJ DIMLJENJA NA MIKROORGANIZME MESA I PROIZVODE OD MESA

Kod dimljenja mesa i proizvoda od mesa, u konzervaciji, pored fizičkih činilaca djeluju i hemijski. Dim je vrlo složenog hemijskog sastava. On sadrži: kiseline (mravlju, kapronsku, a naročito sirčetnu), alkohole, ketone, aldehide (formaldehid, acetaldehid i dr.), fenole, amonijak, metan, CO₂, estre, voskove, smole i dr. Mikrobično i mikrobicidno dejstvo se najviše pripisuje formaldehidu. Za vrijeme dimljenja, dejstvom više temperature suši se površina mesa, proteini djelimično koagulišu, a talože se smole, uz kondenzovanje formaldehida i fenola. Na ovaj način se stvara fizičkohemijska barijera protiv razvića i prodiranja mikroorganizama.

MANE MESA I PROIZVODA OD MESA IZAZVANE MIKROORGANIZMIMA

Razmnožavanjem u mesu i proizvodima od mesa, mikroorganizmi mogu prouzrokovati razne mane u pogledu ukusa, mirisa, konzistencije, boje i dr.

Promjene se mogu pojaviti po površini (**sluzavost, pljesnivost**) i/ili u unutrašnjosti mesa i proizvoda od mesa (**zelene mrlje u kobasicama, truljenje kostiju u šunkama** i na drugim mjestima gdje nije prodro vazduh, i dr). Promjene izgleda, konzistencije i boje obično su praćene neprijatnim mirisom, stvaranjem gasova i dr.

PITANJA

1. Koji su glavni izvori kontaminacije mesa mikroorganizmima?
2. Od kojih faktora zavisi razmnožavanje mikroorganizama u mesu?
3. Kako se može postići uništavanje i sprečavanje razvoja mikroorganizama u mesu?
4. Koji mikroorganizmi preživljavaju temperaturu smrzavanja?
5. Koji je najvažniji proces koji se dešava tokom kvara mesa?

MIKROBIOLOGIJA MESA RIBE

S obzirom na veliki sadržaj vode i u njoj rastvorljivih jedinjenja, ribe su **pogodniji supstrat za razviće mikroorganizama**, nego što su ostale vrste mesa. Mikroorganizmi dospijevaju u meso riba iz raznih izvora, a to su: voda u kojoj ribe žive (koja može biti zagađena otpadnim i kanalizacionim vodama), crijevni sadržaj, nepažljivo čišćenje i izdvajanje unutrašnjih organa, sudovi i pribor za pakovanje i prenos ribe, odijelo, kecelje, ruke osoblja koje posluje sa ribom. Prouzrokovaci kvarenja mesa ribe uglavnom su bakterije koje pripadaju rodovima: *Achromobacter*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Sarcina*, *Proteus*, *Bacillus* i dr. Bakterije roda *Pseudomonas* i *Flavobacterium* su najvažniji prouzrokovaci kvara ribe, a naročito *Pseudomonas fluorescens*. Osim ovih vrsta, u ribama se mogu naći i sporogeni anaerobni štapići iz roda *Clostridium*, kao što su: *Clostridium sporogenes*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens* i dr. Ove bakterije najčešće potiču iz crijevnog sadržaja riba. Koliformnih bakterija nema u crijevnom sadržaju riba, a ako se nađu u mesu riba, uglavnom su porijeklom iz zagađene vode. Ako se ribe duže čuvaju na višim temperaturama, onda se na njima razvijaju mezofilne bakterije: *Proteus*, *Bacillus*, *Micrococcus* vrste i dr. Kod morskih riba se mogu naći i bakterije roda *Corynebacterium*. Sprečavanje razvića mikroorganizama i kvarenja ribe vrši se na razne načine: hlađenjem i smrzavanjem, pasterizacijom i sterilizacijom u proizvodnji ribljih konzervi, sušenjem ribe, dimljenjem ribe (slika 266), soljenjem i salamurenjem ribe, dodavanjem kisjelina, čuvanjem u atmosferi sa CO₂ itd.



SLIKA 266 – Dimljenje ribe

(<http://trochronicles.blogspot.com/2011/01/how-to-smoke-fish-two-methods.html>)

PITANJA

1. Koji su izvori kontaminacije mesa riba mikroorganizmima?
2. Koje bakterije mogu izazvati kvar mesa riba?
3. Kako se može spriječiti kvarenje mesa riba?

MIKROBIOLOGIJA JAJA

Jaja predstavljaju **povoljnu sredinu za razviće mikroorganizama**. Prosječni hemijski sastav jajeta čini voda (73,7%), proteini (13,4%), masti (10,5%), pepeo (1,0%). Ljusku uglavnom čini kalcijum karbonat (93,7%).

PORIJEKLO MIKROORGANIZAMA U JAJIMA

U ljusci postoje brojne pore i pukotine, tako da ona ne predstavlja veliku barijeru za prodror mikroorganizama. Mnogo značajnija prepreka je **pelikula** – tanka membrana kojom je pokrivena površina ljuske. Ovom membranom se presvlači jaje dok još nije sneseno i ona hermetički zatvara sve pukotine i otvore na ljusci. Međutim, pošto je membrana suviše tanka, lako se razara prilikom trenja. Ako jaja potiču od zdrave živine, ona su nakon nošenja sterilna. Ukoliko potiču od bolesne živine, mogu, dok su još u jajovodu, biti kontaminirana raznim patogenim mikroorganizmima i trovačima hrane, kao što su *Salmonella* vrste (*S. Pullorum*, *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *Mycobacterium tuberculosis* tip *avium*, *Campylobacter jejuni* i dr.). Na taj način, mogu biti izvor zaraznih bolesti za životinje i ljude.

Jaja se naknadno kontaminiraju mikroorganizmima iz raznih izvora, kao što su: zemljište i nečistoća koja se lijepi za ljusku, ambalaža u kojoj se jaja čuvaju, ruke i odi-jelo osoblja koje pakuje jaja, vazduh, voda (ukoliko se jaja peru). Razvoj mikroorganizama u jajima zavisi od **bakteridnog dejstva bjelanceta (lizozim)**, temperature i vremena čuvanja jaja. Svježa jaja imaju neutralnu ili slabo baznu reakciju (pH 7,7). Međutim, ako se jaja čuvaju npr. 10 dana, njihov pH se povećava na 9,5. Hemijsko razlaganje bjelancevina odražava se u **promjeni konzistencije bjelanceta**, koje postaje sve rjeđe i vodenasto. Slobodne aminokiseline se dalje transformišu do amonijaka i drugih proizvoda neprijatnog mirisa. U ovakvom stanju, jaja su potpuno neotporna za prodiranje i razviće mikroorganizama i brzo podliježu kvarenju. Kao posljedica hemijskih promjena, javljaju se i **organoleptičke promjene**, na osnovu kojih je izvršena klasifikacija tipova kvarenja jaja.

Prema **promjeni boje**, razlikuju se:

- **crna trulež** (izazivaju je vrste iz roda: *Proteus*, *Alcaligenes*, *Enterobacter*, *Escherichia*),
- **zelena trulež** (vrste iz roda *Pseudomonas*, prvenstveno *Pseudomonas fluorescens*),
- **crvena trulež** (vrste iz roda *Pseudomonas*).

Prema **promjeni konzistencije** jaja, pojavi neprijatnog mirisa i promjeni pH reakcije jaja razlikuje se:

- **miješana trulež** (*Pseudomonas fluorescens*, *Micrococcus roseus*, *Proteus spp.*, *Serratia marcescens* itd.),
- **kisjela jaja s vodnjikavim bjelancetom** (*Escherichia coli*),
- **pljesniva jaja** (pljesni koje se razvijaju na površini ljske ili ispod ljske: *Cladosporium herbarum*, *Penicillium glaucum* i druge *Penicillium* vrste, *Alternaria spp.* i dr.)

ZAŠTITA JAJA OD KVARENJA

Imajući u vidu način dospijevanja mikroorganizama u jaja, kao i najčešće vrste bakterija i pljesni koje se nalaze u pokvarenim jajima, preduzimaju se i adekvatne mjere za zaštitu jaja od mikrobiološkog kvarenja, a to su:

- mjere kojima se **smanjuje kontaminacija jaja** mikroorganizmima i njihovo prodiranje u jaja (održavanje čistoće i higijene u glijezdima, čuvanje jaja u čistoj ambalaži, tretiranje površine ljske jaja (potapanje u mineralna ulja, rastvor kreča itd.);
- mjere kojima se potpuno **sprečava ili usporava razvoj** mikroorganizama u jajima (čuvanje jaja na niskim temperaturama (0–1°C), smrzavanje bjelanca i žumance-ta izdvojenih iz ljske (zajedno ili odvojeno), sušenje jaja itd.).

PITANJA

1. Koji su izvori kontaminacije jaja mikroorganizmima?
2. Od kojih faktora zavisi razvoj mikroorganizama u jajima?
3. Koji su tipovi kvarenja jaja?
4. Koje su mjere zaštite jaja od kvarenja?

L i t e r a t u r a

1. Andrić B. (2008): Vektorima prenosive zoonoze, Univerzitet Crne Gore, Podgorica, p. 1–249.
2. Ašanin R., Krnjajić D., Milić N. (2008): Priručnik sa praktičnim vežbama iz mikrobiologije sa imunologijom (2008): Fakultet Veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu, p. 1–287.
3. Babić I. (1947): Cestoidea, III dio, Uџbenik veterinarske parazitologije, Naklada, Zagreb 1947, p. 1–134.
4. Blaženčić J. (1990): Sistematika algi, Naučna knjiga, Beograd, 1990.
5. Beganović A. (1975): Mikrobiologija mesa i mesnih prerađevina, Univerzitet u Sarajevu, Sarajevo, p. 1–378.
6. Begović O., Diklić V., Dukić S., Kosanović M., Mijin K. (1984): Biologija za studente medicine i stomatologije, Izdavačka delatnost, Beograd, p. 1–317.
7. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (2005): Second Edition, Vol 1, The Archaea and the Deeply Branching and Phototrophic Bacteria, Springer, New York, p 1–721.
8. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (2005): Second Edition Vol 2, The Proteobacteria, Part A, Introductory Essays, Springer, New York, p. 1–304.
9. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (2005): Second Edition, Vol 2, The Proteobacteria, Part B, The Gammaproteobacteria, Part B Springer, New York, p 1–1106.
10. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (2005): Second Edition Vol 2, The Proteobacteria, Part C, The Alpha, Beta, Delta and Epsilonproteobacteria, Springer, New York, p. 1–1388.
11. Bojanić M., Piccinini R., Katić V., Zecconi A. (2001): Influence some factors on adherence of *S. aureus* and *S. agalactiae* to bovine mammary secretory epithelial cells (BME–UV1); Acta Veterinaria, Beograd, Vol. 51. No.1, p. 45–52.
12. Bojanić M. (2001): Mastitis pathogenesis. The Third Symposium in animal clinical pathology and therapy, with international participation, Clinica veterinaria, 11–15. june, Budva, Proceedings, p 238–243.
13. Bojanić M., Katić V. (1997): Adherencija bakterija kao uslov za nastajanje mastitisa. Poljoprivreda i šumarstvo, vol. 43 (4), Podgorica, p. 71–84.
14. Bojanić M. (2001): Značaj proizvodnje higijenski ispravnog mljeka u ishrani ljudi. Zbornik radova, Savjetovanje „Poljoprivreda i turizam Crne Gore“, 23–25. maj, p. 193–197.

15. Bojanić M. (2001): Značaj adherencije patogenih bakterija u nastajanju mastitisa i faktori koji na nju utiču. Simpozijum Mastitis i kvalitet mleka, Vrnjačka Banja, 30. maj – 2. jun, p. 39–47.
16. Bojanić M., Božarić L., Pejović N. (2003): Prisustvo antitijela na virus bovine dijareje (BVDV) kod mlijecnih krava na području Crne Gore, Zbornik referata i kratkih sadržaja, Simpozijum „V Epizootiološki dani“ sa međunarodnim učešćem, Subotica, p. 51.
17. Bojanić M., Mirecki S., Stanković V., Živković B. (2003): Promjene fizičko-hemijskih parametara kvaliteta mlijeka i broja somatskih ćelija kod infekcija mlijecne žlijezde krava različite etiologije, Simpozijum „Savremeni trendovi u mlekarstvu“, Zbornik radova, Zlatibor, p. 61.
18. Bojanić M., Šaletić M. (2003): Slučaj endometritisa krave izazvanog sa *Arcanobacterium pyogenes*, Veterinarski žurnal Republike Srpske, Vol.III, No 1–2, p. 104–108.
19. Bojanić M., Božarić L., Pejović N. (2003): Prevalence of antibodies to BVD virus in dairy cows in Montenegro, 1st FEMS Congress of European microbiologists, Slovenia, Ljubljana, Cankarjev dom, june 29–3 July, p. 479, p. 15–2.
20. Bojanić M., Pavićević Z., Pejović N. (2004): Raširenost infekcije sa *Mycoplasma agalactiae* kod ovaca i koza na području Crne Gore, VI epizootiološki dani, Zbornik kratkih sadržaja, p. 157.
21. Bojanić M. (2004): Raširenost infekcije sa *Mycoplasma bovis* kod krava u Crnoj Gori, Veterinarski žurnal Republike Srpske, Vol. IV, No 1–2, p. 9.
22. Bojanić Rašović M., Mirecki S., Nikolić N., Rašović R. (2009): Uticaj ukupnog broja mikroorganizama i broja somatskih ćelija mlijeka na randman polutvrdog sira, Prehrambena industrija 1–2, p. 48–51.
23. Bojanić Rašović M., Mirecki S., Nikolić N., Vučinić S. (2009): Uticaj mikrobiološkog kvaliteta i broja somatskih ćelija u mlijeku na mikrobiološki kvalitet polutvrdog prirodno sušenog sira, Veterinarski žurnal Republike Srpske, Vol. IX, No 2, Banja Luka, p. 163–168.
24. Bojanić Rašović M., Stjepanović A., Katić V., Kuč J. (2010): Neke karakteristike sojeva *Lactococcus garvieae* izolovanih iz prirodno koagulisanog sirovog mlijeka sa područja Crne Gore, Veterinarski žurnal Republike Srpske, Vol. X, No 1, UDK 579.62: 637.12 (497.16), p. 69–77.
25. Bojanić Rašović M., Mirecki S., Nikolić N., Vučinić S., Ivanović I., Rašović R. (2010): Mikrobiološki i hemijski kvalitet autohtonih sireva u Crnoj Gori, Prehrambena industrija 1–2, Vol 21, p. 127–133.
26. Bojanić Rašović M., Mirecki S., Nikolić N., Katić V., Rašović R. (2011): The correlation between hygienic parameters of milk and weight loss of semihard cheese, Biotechnology in Animal Husbandry 27 (2), p. 273–284.

27. Bojanic Rasovic, M., Mayrhofer, S., Martinovic, A., Dürr, K.& Domig, J. K. (2017): Lactococci of Local Origin as Potential Starter Cultures for Traditional Montenegrin Cheeses. *Food Technol. Biotechnol.* 55 (1), p. 55–66.
28. Bojanic Rasovic M. (2018): Potential and constraints of indigenous enterococci in dairy industry. *Acta Microbiologica Bulgarica*, 34 (1), p. 18–24.
29. Bojanić Rašović M. (2017): Potential of indigenous lactobacilli as starter culture in dairy products, *Acta periodica technologica*, 48, p. 39–52.
30. Bojanic Rasovic M. (2017): Helminthes that are transmitted through food to humans, *Journal of Hygienic Engineering and Design*, Vol 22, p. 3–8.
31. Bojanić Rašović, M., Bojović, O., Hrapović M., Kažić, D., Kuč, B. (2013): The spread of tuberculosis in Montenegro from 1999. to 2012. Proceedings, Third International Epizootiology Days and XV Serbian Epizootiology Days, p. 84–92.
32. Bojanić Rašović M. (2017): The most important pathogenic protozoa that transmitted to humans through food. The international symposium on animal science (ISAS). Herceg Novi, 5–10 june, Montenegro, p. 331–340.
33. Katić, Vera, Bojanić, Mirjana, Stojanović, L (1996): Effect of some factors influencing the adherence of mastitis pathogens to epithelial cells of the bovine mammary gland, *Acta veterinaria*, Belgrade, Vol. 46, No 6, p. 326–334.
34. Cavalier-Smith T. (2018): Kingdom Chromista and its eight phyla: a new synthesis emphasising periplastid protein targeting, cytoskeletal and periplastid evolution, and ancient divergences, *Protoplasma*, 255, 297–357.
35. Cohen O. Jay (1972): *The Staphylococci*, Wiley Interscience, New York, p. 1–548.
36. Davidović M. (1986): *Biologija*, Medicinska knjiga Beograd–Zagreb, p. 1–738.
37. Delić S. (1962): *Protozoologija i protozoarne bolesti domaćih životinja*, skripta, Sarajevo, p. 1–205.
38. Dimitrijević S., Ilić T. (2003): *Kokcidioza živine*, Fakultet veterinarske medicine u Beogradu, Beograd, p. 1–79.
39. Dobrić Đ. (1988): *Zaraze domaćih životinja*, opšti deo, Naučna knjiga, Beograd, p. 1–105.
40. Doyle P. M., beuchat L. (2007): *Food Microbiology, Fundamentals and frontiers*, Third Edition, ASM Press, Washington, D.C., p. 1–1038.
41. Dumanović J., Marinković D., Denić M. (1985): *Genetički rečnik*, Naučna knjiga, Beograd, p. 1–211.
42. Đelić N., Stanimirović Z. (2009): *Principi genetike*, Elit Medica, Beograd, p. 1–297.
43. Đukić D., Jemcev V. (2004): *Opšta i industrijska mikrobiologija*, Stylos, Novi Sad, p. 1–397.
44. Đukić D., Gajin S., Matavulj M., Mandić L. (2000): *Mikrobiologija voda*, monografija, Prosveta, Beograd, p. 1–275.

45. Đukić D., Milošević Sbutega G., Škrinjar M. (2008): Aeromikrobiologija, Agronomski fakultet, Čačak, p. 1–188.
46. Đukić D., Jemcev V., Mandić L. (2011): Sanitarna mikrobiologija zemljišta, Agronomski fakultet, Čačak, p. 1–502.
47. Đukić D., Đorđević S., Mandić L., Trifunović B. (2012): Mikrobiološka transformacija organskih supstrata, Agronomski fakultet, Čačak, p. 1–232.
48. Đukić D., Jemcev V. (2003): Mikrobiološka biotehnologija, Dereta, Beograd, p. 1–491.
49. Đukić D., Mandić L., Pešaković M., Đorđević S. (2009): Mikrobiologija stočne hrane, Budućnost, Novi Sad, p. 1–111.
50. Đukić D., Mandić L. (2012): Tehnologija mikrobioloških proizvoda, Prosveta, Beograd, p. 1–306.
51. Đukić D., Jemcev V., Kuzmanova J. (2007): Biotehnologija zemljišta, Budućnost, Novi Sad, p. 1–529.
52. Đukić D., Đorđević S. (2004): Prirodoslovna mikrobiologija, Stylos, Beograd, p. 1–179.
53. Đukić D., Jemcev V., Đorđević S., Trifunović S., Mandić L., Pešaković M. (2013): Bioremedijacija zemljišta, Budućnost DOO, Novi Sad, p. 1–207.
54. Đukić D., Jemcev V., Mandić L. (2011): Sanitarna mikrobiologija zemljišta, Agronomski fakultet, Čačak, p. 1–502.
55. Đukuć D., Jemcev V., Mandić L. (2006): Mikroorganizmi i alternativna poljoprivreda, Budućnost AD, Čačak, p. 1–154.
56. Easmon C.S.F. (1983): *Staphylococci and Staphylococcal infections*, Academic Press, London , vol 1, p. 1–384.
57. Easmon C.S.F. (1983): *Staphylococci and Staphylococcal infections*, vol 2, Academic Press, London, p. 1–827.
58. Jarak M., Govedarica M. (2003): Mikrobiologija, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad, p. 1–192.
59. Jemcev V., Đukić D. (2000): Mikrobiologija, Vojno–izdavački zavod, Beograd, p. 1–761.
60. Kažić D. (1970): Endohelminți ekonomski najznačajnijih riba Skadarskog jezera, Titograd, p. 1–128.
61. Karakašević B. (1987): Mikrobiologija i parazitologija, Medicinska knjiga, Beograd–Zagreb, p. 1–1391.
62. Katić V., Bojanović M., Stojanović, L. (1996): Effect of some factors influencing the adherence of mastitis pathogens to epithelial cells of the bovine mammary gland, *Acta veterinaria*, Vol. 46, No 6, p. 326–334.
63. Krstić Lj. (1995): Medicinska virusologija, Zavod za udžbenike i nastavna sredstva, Beograd, p. 1–198.

64. Kulišić Z. (2001): Helmintologija, Veterinarska komora Srbije, Beograd, p. 1–350.
65. Labbé G. R. and Santos G. (2001): Guide to foodborne pathogens, Wiley–Interscience, New York, p. 1–373.
66. Lolin M. (1991): Zarazne bolesti bakterijske etiologije, Univerzitet u Beogradu, Veterinarski fakultet, Beograd, p. 1–119.
67. Marinković D., Tucić N., Kekić V. (1987): Genetika, Naučna knjiga, Beograd, p. 1–495.
68. Marković B. (1986): Mikrobiologija II, Bakterije, kvasci i plesni, Zavod za udžbenike i nastavna sredstva, Beograd, p. 1–243.
69. Mihailović M. (1985): Biohemija, Univerzitet u Beogradu, Veterinarski fakultet, p. 1–539.
70. Martinović A., Ojdanić M. (2011): Molekularna biologija i genetika, udžbenik za treći i četvrti razred gimnazije, Zavod za udžbenike i nastavna sredstva, Podgorica, p. 1 –216.
71. Mihailović B. (1986): Mikrobiologija I, Veterinarski fakultet, Beograd, p. 1–292.
72. Mihailović B. (1989): Mikrobiologija III, Rikecije i virusi, Naučna knjiga, Beograd, p. 1–302.
73. Mijačević Z. (1992): Tehnologija mleka, fermentisana mleka i sirevi, Univerzitet u Beogradu, Beograd, p. 1–196.
74. Naglić T., Hajsig D. (1993): Veterinarska imunologija, Školska knjiga, Zagreb, p. 1–329.
75. Obradović D. (2002): Svetlosni mikroskopi, Zavod za udžbenike i nastavna sredstva Beograd, p. 1–259.
76. Panjević Đ. (1991): Zarazne bolesti životinja virusne etiologije, Univerzitet u Beogradu, Veterinarski fakultet, Beograd, p. 1 –127.
77. Pelagić Radanov V. V. (2000): Mikrobiologija stočne hrane, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad, p. 1–240.
78. Pešić V., Crnobrnja Isailović J., Tomović Lj. (2009): Principi ekologije, Univerzitet Crne Gore, Podgorica, p. 1–191.
79. Quinn P.J., Carter M.E., Markey B., Carter G.R. (2002): Clinical Veterinary Microbiology, Mosby, Spain, p. 1–548.
80. Rašeta J. (1970): Kvar mesa i toksikoinfekcije i intoksikacije mesom, skripta, Beograd, Republički sekretarijat za poljoprivredu, šumarstvo i vodoprivredu SR Srbije, Beograd, p. 1–141.
81. Rašeta J., Dakić M. (1984): Higijena mesa živine i jaja, Univerzitet u Beogradu, Veterinarski fakultet, Beograd, p. 1–116.
82. Rašeta J. (1994): Higijena mesa, Univerzitet u Beogradu, Veterinarski fakultet Beograd, p. 1–218.

83. Robinson K. R. (2002): *Dairy microbiology handbook*, Wiley–Interscience, New York, p. 1–765.
84. Ruggiero MA, Gordon DP, Orrell TM, Bailly N, Bourgoin T, Brusca RC. et al. (2015): A Higher Level Classification of All Living Organisms. *PLoS ONE* 10(4).
85. Ruggiero MA, Gordon DP, Orrell TM, Bailly N, Bourgoin T, et al. (2015): Correction: A Higher Level Classification of All Living Organisms. *PLOS ONE* 10(6): e0130114.
86. Salle, A.J. (1974): *Osnovni principi bakteriologije*, Medicinska knjiga, Beograd–Zagreb, p. 1–727.
87. Savin Ž., Skripta iz parazitologije, Veterinarski fakultet Univerziteta u Beogradu, p. 1–79.
88. Schmidt R., Rodrick G. (2003): *Food safety handbook*, Wiley–Interscience, New York, p. 1–850.
89. Srebočan V. (1993): *Veterinarska toksikologija*, Medicinska naklada, Zagreb, p. 1–357.
90. Stevanović J. (2004): *Fiziologija organa za varenje kod domaćih životinja*, Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, p. 1–165.
91. Stević B. (1962): *Tehnološka mikrobiologija stočnih proizvoda i ishrane stoke*, Naučna knjiga, Beograd, p. 1–298.
92. Stević B. (1987): *Mikrobiologija, specijalni dio za stočarski odsjek*, Poljoprivredni fakultet, Sarajevo, p. 1–132.
93. Stojanović L., Katić V. (2004): *Higijena mleka*, Veterinarska komora Srbije, Beograd, p. 1–414.
94. Šibalić S., Cvetković Lj. (1996): *Parazitske bolesti domaćih životinja*, Univerzitet u Beogradu, Beograd, p. 1–421.
95. Šutić D., Radin D. (2001): *Mikrobiologija, mikroorganizmi u životu biljaka*, Vizartis, Beograd, p. 1–320.
96. Švabić Vlahović M. (2005): *Medicinska bakteriologija*, Savremena administracija, Beograd, p. 1–419.
97. Tešić Ž., Todorović M. (1992): *Mikrobiologija*, Naučna knjiga, Beograd, p. 1–249.
98. Todorović J., Bojanić Rašović M. (2009): *Mikrobiologija, udžbenik za III razred srednjih stručnih škola*, Centar za stručno obrazovanje, Podgorica, p. 1–316.
99. Valčić M. (1998): *Opšta epizootiologija*, Beograd, p. 1–281.
100. Vučetić J., Veljković V., Vrvić M., Lazić M. (1995): *Mikrobiološke sinteze polisaharida*, Naučna knjiga, Beograd, p. 1–77.
101. Zbornik radova Jugoslovenskog Simpozijuma o lajšmaniozama (1997): *Društvo mikrobiologa Crne Gore*, p. 1–132.
102. Zbornik radova, seminar Toksoplazmoza u humanoj i veterinarskoj medicini (2003), Institut za zdravlje Crne Gore, Društvo mikrobiologa Crne Gore, p. 1–81.

103. Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria, Taxonomic Outline Last updated: October 3rd 2017, Wiley&Sons, https://wol-prod-cdn.literatumonline.com/pb-assets/assets/9781118960608/Taxonomic_Outline_October_2017-1507044705000.pdf
104. Slike su preuzete sa dostupnih internet sajtova (29. 01. 2013., 4. 12. 2018. i 10. 04. 2019. godine).

CIP – Katalogizacija u publikaciji
Nacionalna biblioteka Crne Gore, Cetinje
ISBN
COBISS.CG-ID