

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПРОКАРИОТ

Идентификация – это
определение
систематического положения
культуры до уровня вида
или варианта.

**Для идентификации бактерий
используют комплекс
признаков:**

1. Морфологические признаки:
форма, размеры клетки,
подвижность, наличие спор,
капсул, жгутиков, включений в
клетке и т.д.

2. Тинкториальные признаки -
способность бактерий
окрашиваться по Граму и тест
на кислотоустойчивость.

3. Культуральные свойства –
особенности роста чистой
культуры на плотных и жидких
питательных средах.

4. Физиолого-биохимические

признаки включают:

- ✓ тип обмена исследуемой бактерии;
- ✓ способность использовать соединения углерода, азота и серы;
- ✓ ферментативная активность;
- ✓ отношение к факторам среды: к O_2 , температуре, pH

5. Серологические свойства

- **Разные виды бактерий обладают специфичной антигенной структурой.**
- **Антигенами (Аг) могут быть молекулы белков, полисахаридов, липополисахариды и др.**
- **В зависимости от локализации у бактерий выделяют несколько групп Аг: капсульные, Н-антигены (жгутиковые), О-антигены (соматические) и др.**

- Для серодиагностики («serum» - сыворотка) используют **диагностические антисыворотки** - это иммунные сыворотки, содержащие антитела (АТ) против одного Аг или нескольких Аг.
- Получают их путем иммунизации животных (кроликов, лошадей и др.).

- Серотипирование (определение вида или подвида бактерий при помощи сывороток) проводят при помощи реакции **агглютинации**.
- **Агглютинация** - процесс склеивания клеток бактерий под действием гомологичных *АТ*, в результате чего образуется *агглютинат* (зерна *агглютинации*).
- Для постановки реакции агглютинации необходимы антисыворотка и *Аг* (бактериальная суспензия *Н*- или *О*-антигена).

- Реакцию проводят объемным (в пробирках) или капельным методом (на предметном стекле), смешивая определенные объемы антисыворотки и бактериальной суспензии.
- Положительная реакция выражается в появлении агглютината в исходно однородной суспензии.

6. Хемотаксономические признаки

Хемотаксономия - классификация организмов на основе особенностей химического состава клеток.

Хемотаксономия изучает

- ✓ компоненты клеточной стенки (пептидогликан и др.),
- ✓ компоненты ЦПМ (липиды, жирные кислоты и т. д.),
- ✓ белковый состав клеток (белковая таксономия).

7. Геномные характеристики штаммов и видов

- ***Геносистематика*** основана на анализе нуклеиновых кислот.
- Геномы различных бактерий сравнивают по их размерам, по нуклеотидному составу (молярная доля гуанина и цитозина (GC) в ДНК, %), по степени гибридизации ДНК.
- Проводят анализ нуклеотидных последовательностей рРНК (16S-, 23S-рРНК).

Идентификация некультивируемых микроорганизмов

- **Культивируемые формы микроорганизмов составляют от 2 до 20 % (по данным разных авторов).**
- **Некультивируемые - составляют 98-80 %.**

Этапы идентификации некультивируемых микроорганизмов:

- ✓ Извлечение нуклеинового материала из образцов почвы, воды и т.д.
- ✓ Аmplификация фрагментов полученного генетического материала с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР) с соответствующим образом подобранными праймерами.
- ✓ Секвенирование – определение последовательностей нуклеотидов в нуклеиновых кислотах (ДНК, РНК). Или полученный материал используют для гибридизации.

ОПРЕДЕЛИТЕЛИ БАКТЕРИЙ

«Определитель бактерий и актиномицетов» Н. А. Красильникова (1949)

Эубактерии и родственные им организмы, по Н. А.

Красильникову, подразделяются на 4 класса:

- *Eubacteria* (истинные бактерии).
- *Actinomycetes* (актиномицеты).
- *Mycobacteria* (миксобактерии).
- *Spirochaetae* (спирохеты).

Определитель бактерий

Берджи

- Издаётся Американским Бактериологическим Обществом с 1923 года.
- В девятом издании определителя Берджи (1994 г.) отражена искусственная классификация.

- В этом издании определителя Берджи прокариоты разделены на **четыре категории(отдела)**.
- В основе дифференциации бактерий лежит **различие в строении клеточной стенки, и, соответственно, отношение к окраске по Граму**. Это наиболее характерные и легко определяемые признаки.

Определитель Берджи (9-е издание, 1994)

включает 4 основных категории бактерий:

1. Грамотрицательные эубактерии, имеющие клеточную стенку (отдел *Gracilicutes*, тонкокожие, от лат. *cutes* – кожа, *gracilis* – тонкий) - 16 групп.
2. Грамположительные эубактерии, имеющие клеточную стенку (отдел *Firmicutes*, толстокожие, от лат. *firmus* – прочный) - 13 групп.
3. Эубактерии, лишённые клеточной стенки (отдел *Tenericutes*, от лат. *tener* – мягкий, нежный) - 1 группа (Микоплазмы).
4. Археобактерии (отдел *Mendosicutes*, от лат. *mendosus* – ошибочный) - 5 групп.

- Описание бактерий в пределах каждой категории дается по группам.
- В общей сложности определитель включает **35 групп**.
- В состав группы включены семейства, роды и виды. В некоторых случаях в состав групп входят классы и порядки.
- Между группами нет филогенетических связей, т.е. в

Руководство Берджи по систематической бактериологии (2001-2007)

- В настоящее время наиболее приемлемая филогенетическая система классификации прокариот – система, основанная на сопоставлении последовательности нуклеотидов в 16S-рРНК.
- Эта система положена в основу второго издания **Руководства Берджи по систематической бактериологии**, вышедшего в свет в 2001–2007 гг.
- В этом руководстве при классификации прокариот учитывается **организация геномов прокариот в сочетании с фенотипическими признаками.**