



УРАЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ

КАФЕДРА МИКРОБИОЛОГИИ, ВИРУСОЛОГИИ И

ИММУНОЛОГИИ

## **Классификация микроорганизмов.**

**Морфология бактерий. Методы определения  
вида микробов. Структура бактериальной**

**клетки. Особенности строения спирохет,**

**актиномицетов, микоплазм, хламидий,**

**риккетсий. Бактериоскопический метод.**

**Простые и сложные методы окраски. Окраска**

**по Граму. Методы выявления капсул, жгутиков,**

**спор. Изучение микробов в живом состоянии.**

**Методы микроскопирования.**

# Классификация микроорганизмов

**В настоящее время мир микроорганизмов подразделяют на следующие формы:**

**1. Неклеточные формы:** прионы; вириды; вирусы.

**2. Клеточные формы:**

**2.1. Прокариоты:**

Домен Bacteria:

- бактерии с тонкой клеточной стенкой (грамотрицательные);
- бактерии с толстой клеточной стенкой (грамположительные);
- бактерии без клеточной стенки (микоплазмы).

Домен Archaea: археобактерии.

**2.2. Эукариоты:** простейшие; грибы.

# Классификация микроорганизмов

В настоящее время в классификации микроорганизмов используются следующие таксономические категории:

- надцарство или домен (*Domain*),
- царство (*Regnum*),
- филум, тип, отдел (*Phylum*),
- класс (*Classis*),
- порядок (*Ordo*),
- семейство (*Familia*),
- род (*Genus*),
- вид (*Species*).

Эти категории являются обязательными.

# Классификация микроорганизмов

Необязательными категориями являются:

- подкласс (*Subclassis*),
- подсемейство (*Subfamilia*),
- подрод (*Subgenus*),
- подвид (*Subspecies*).

# Классификация микроорганизмов

- Основной таксономической единицей является **вид**.
- **Вид** – это группа близких между собой микробов, имеющих общее происхождение, сходные морфологические, биохимические и физиологические признаки, приспособленные к определенной среде обитания.
- **Подвид** – это совокупность бактерий определенного вида, отличающихся некоторыми признаками, не препятствующими их объединению в вид.

# Классификация микроорганизмов

- **Род** – это группа микроорганизмов близкородственных видов с общими свойствами. Каждый род имеет типовой вид, на основе которого он формируется. Например, вид *Escherichia coli* является типовым для рода *Escherichia*.
- **Семейство** – это совокупность родов, имеющих общие основные свойства. Сходные семейства объединяются в порядок, а порядки – в классы, типы, царство и домен.

# Классификация микроорганизмов

- **Вариант** – это бактерии одного вида, отличающиеся по тем или иным свойствам.
- В медицинской бактериологии обычно выделяют серологические варианты (**серовары**), варианты с разной чувствительностью к бактериофагам (**фаговары**), варианты, различающиеся по биохимическим свойствам (**хемовары**), биологическим или культуральным признакам (**биовары**), патогенности (**патовары**), морфологическим характеристикам (**морфовар**).



В микробиологии для обозначения микробных культур используются специализированные термины:

- **Культура** - это микроорганизмы, выращенные на плотной или в жидкой питательной среде в лабораторных условиях.
- **Чистая культура** представляет собой культуру микробов из особей одного вида.
- **Смешанная культура** представляет собой совокупность бактерий нескольких видов, выросших в питательной среде при посеве исследуемого материала или при попадании в питательную среду, засеянную одним видом микроба, еще и других видов микроорганизмов из внешней среды.

- **Клон** (греч. *klon* - отводок) - это культура микробов, полученная в результате размножения на питательной среде одной бактериальной клетки определенного вида (потомство одной клетки).
- **Штамм** (нем. *stammen* - происходить) - это чистая культура определенного вида микроба, выделенная из того или иного конкретного объекта (какого-либо организма или объекта окружающей среды) и отличающаяся от эталонного штамма незначительными изменениями свойств. Разные штаммы одного вида микроорганизмов могут различаться по таким признакам как чувствительность к **антибиотикам**, способность синтезировать некоторые ферменты и т. д.
- **Популяция** - это совокупность бактерий одного вида, полученная при выращивании на питательной среде одной или нескольких клеток.

# Принципы классификации микроорганизмов

- **Морфологические и тинкториальные свойства** - величина, форма клеток, наличие капсулы, спор, жгутиков, способность окрашиваться красителями.
- **Тип дыхания** – потребность в газообразном кислороде.
- **Биохимические свойства** - способность ферментировать углеводы, расщеплять белки.
- **Антигенная структура** – наличие антигенов.
- **Чувствительность к бактериофагам.**
- **Химический состав** - содержание и состав углеводов, липидов, белков.
- **Генетическое родство с другими бактериями.**

# Морфология бактерий

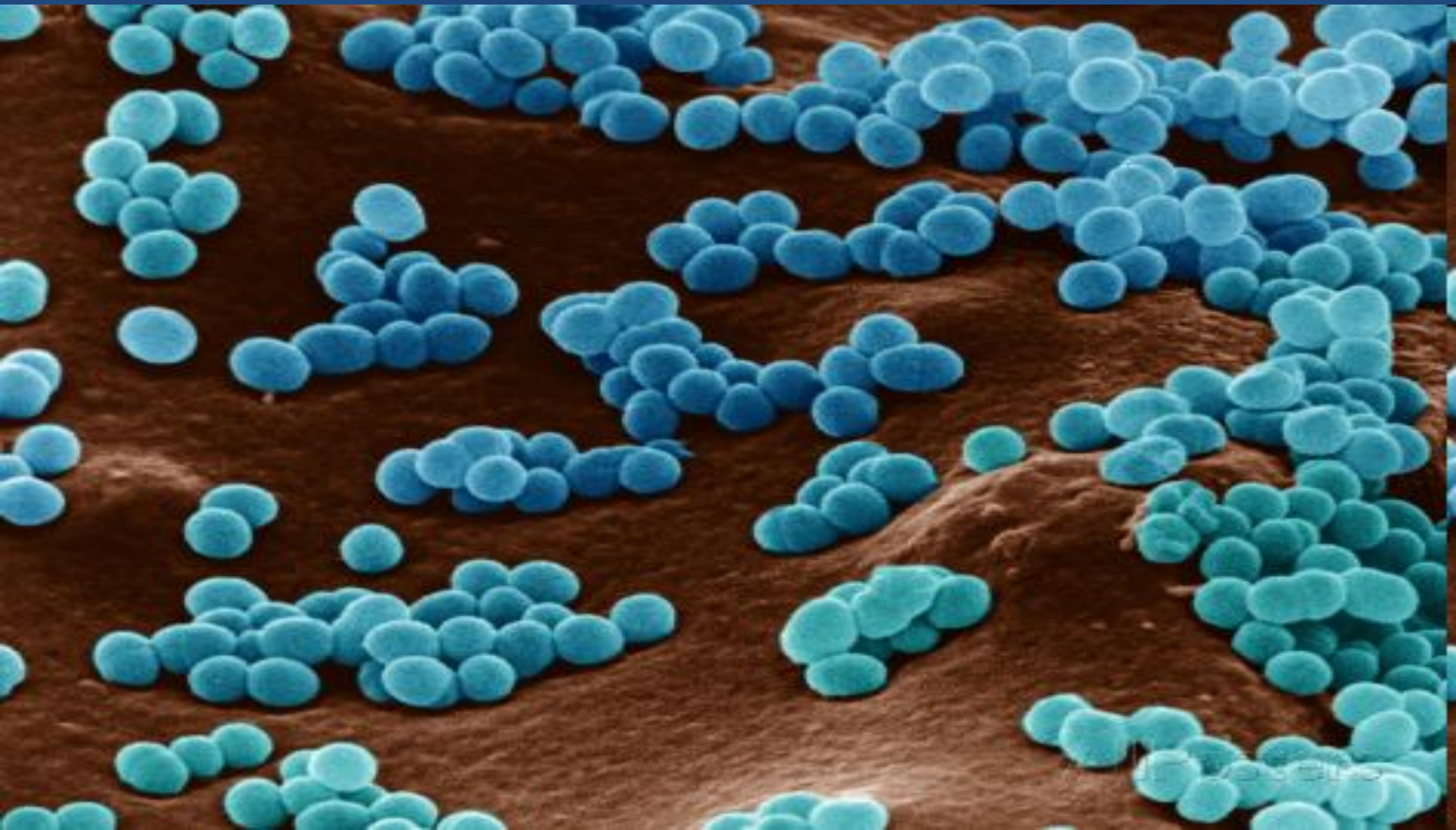
По форме клеток бактерии подразделяются на **3 основные группы:**

- шаровидные формы или кокки;
- палочковидные формы или палочки;
- извитые формы.

**Кокки** - в зависимости от взаимного расположения клеток после деления различают следующие виды кокков:

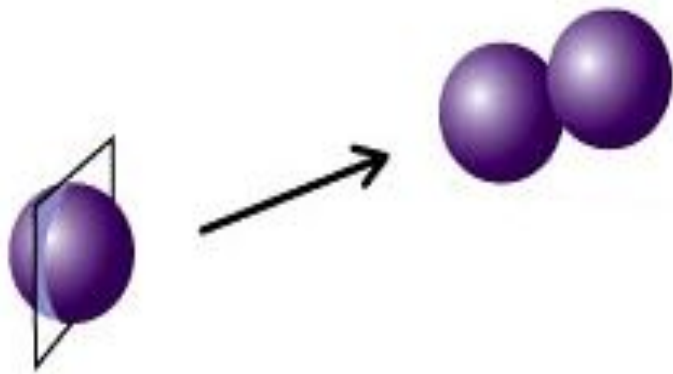
- микрококки
- диплококки
- стрептококки
- тетракокки
- сарцины
- стафилококки

# МИКРОКОККИ





# ДИПЛОКОККИ

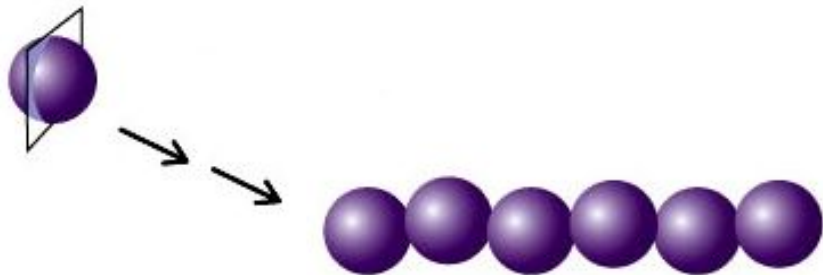


*Neisseria meningitidis*

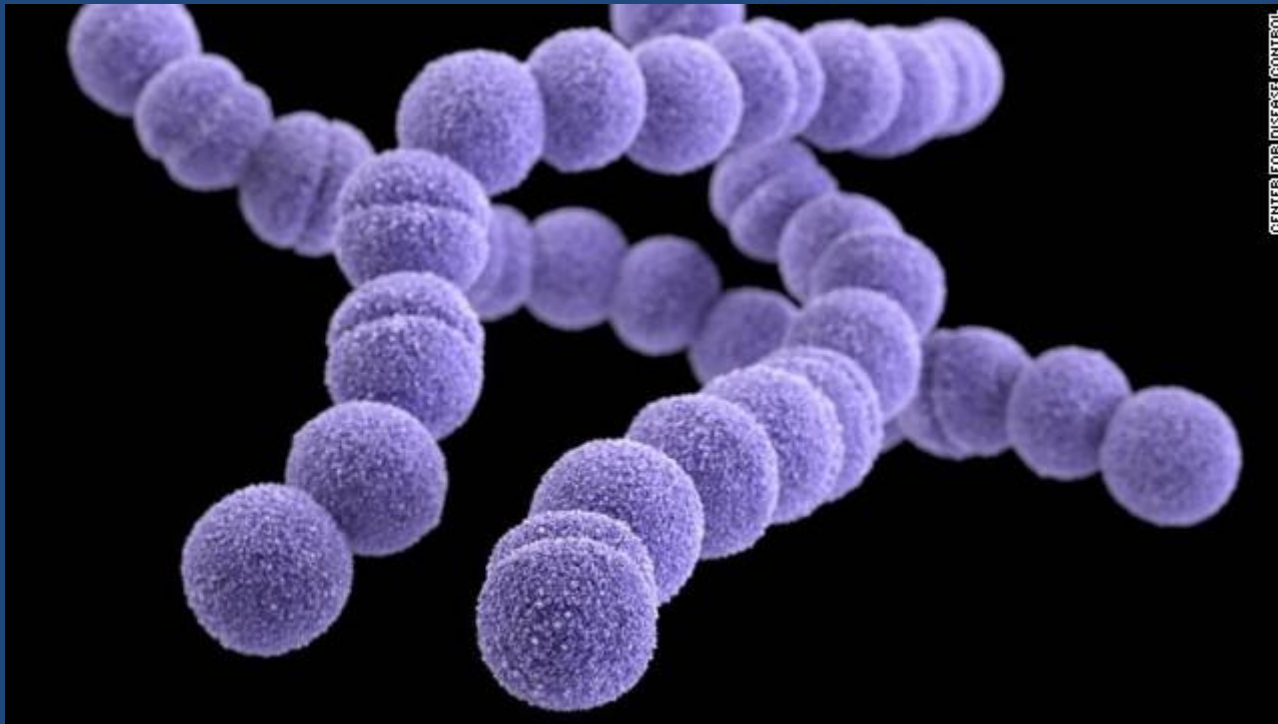




# СТРЕПТОКОККИ

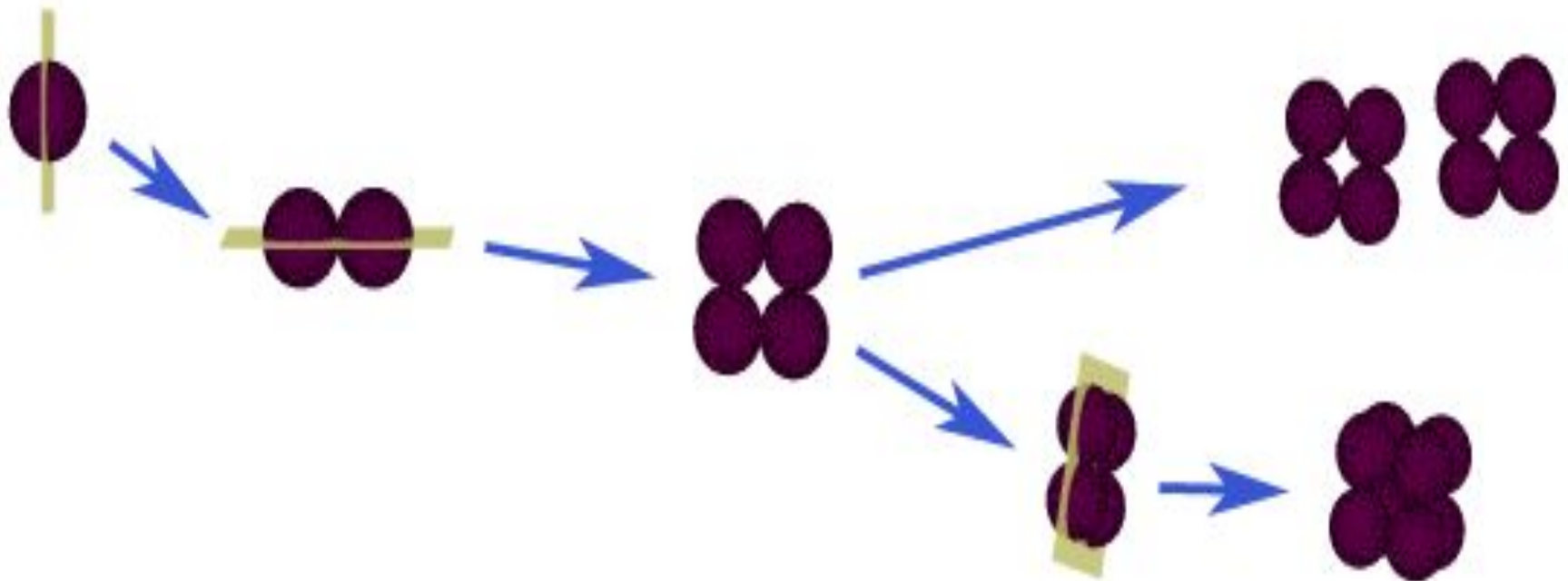


# СТРЕПТОКОККИ

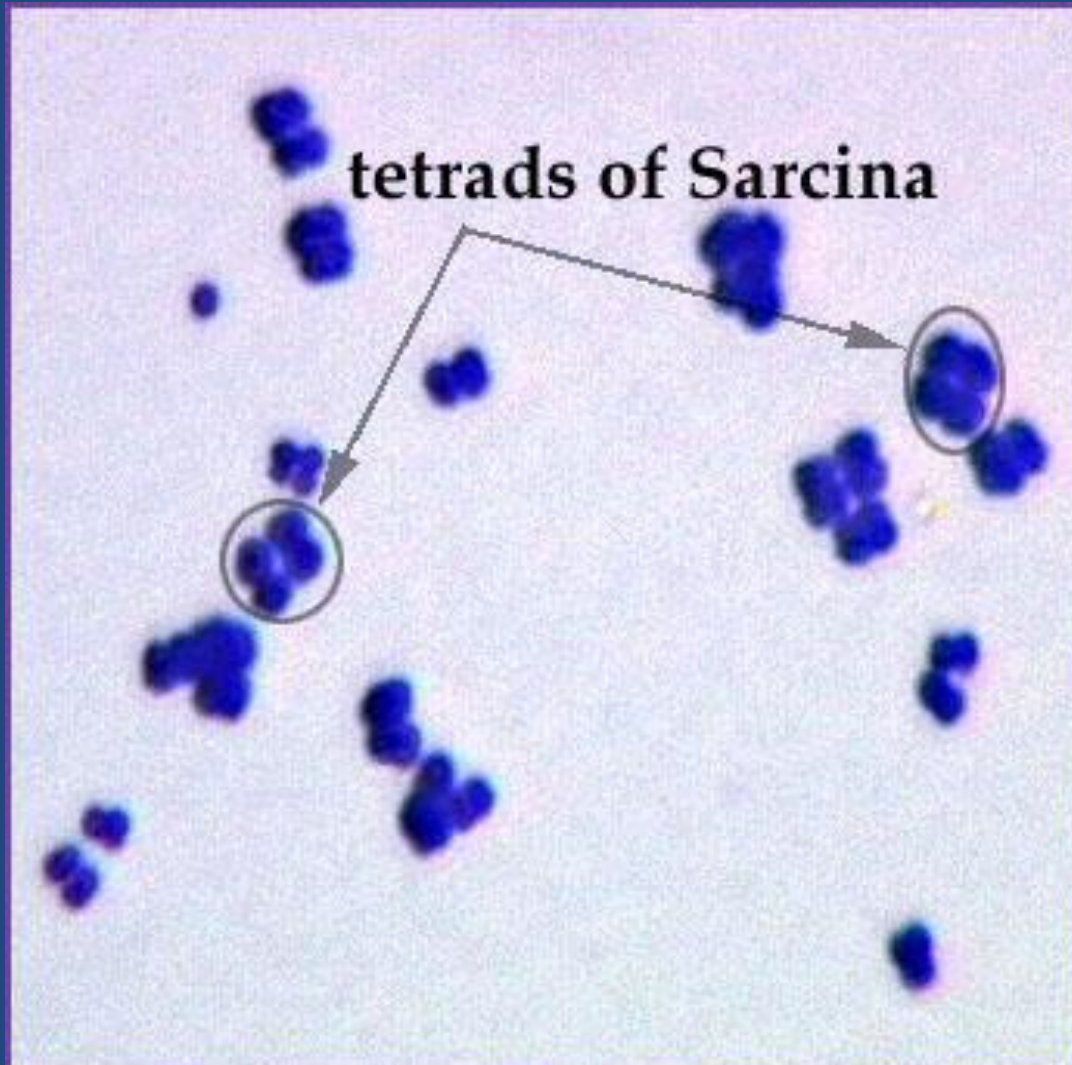


*Streptococcus pyogenes*

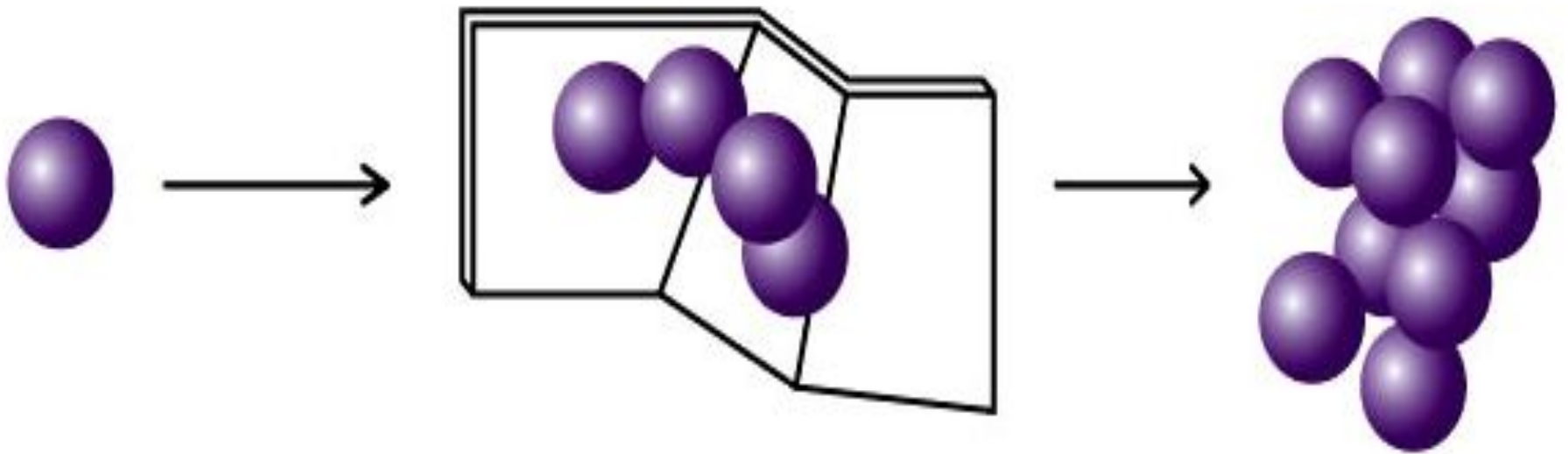
# Тетракоки, сарцины



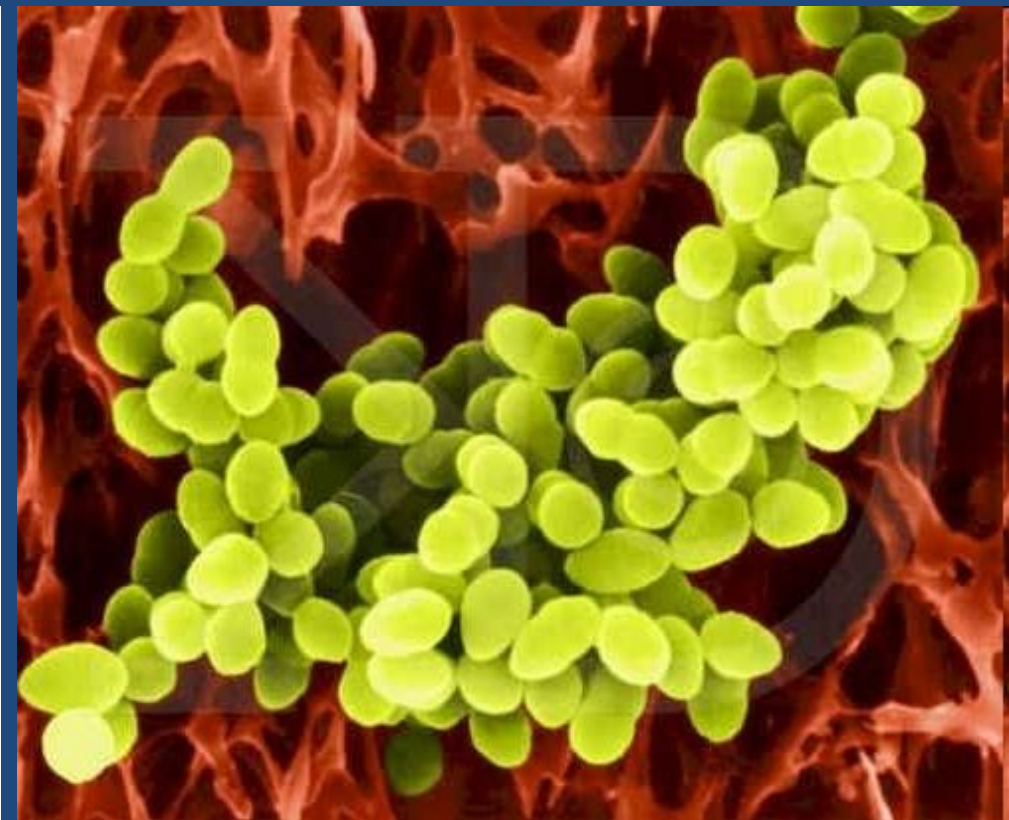
# Тетракокки, сарцины



# стафилококки



# стафилококки



*Staphylococcus aureus*

# Палочковидные бактерии



# Палочковидные бактерии

подразделяются на 2 группы:

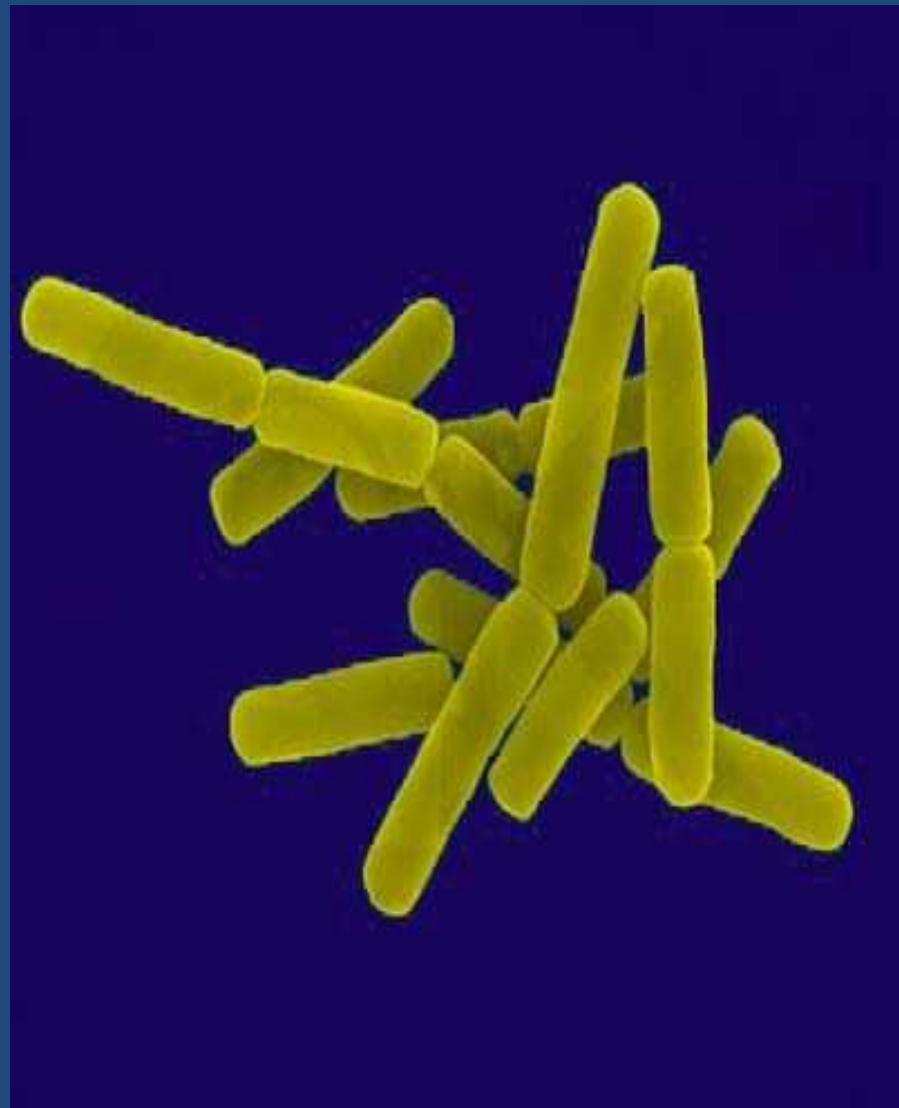
- не образующие спор палочки;
- образующие споры палочки.



**Clostridium**

**и**

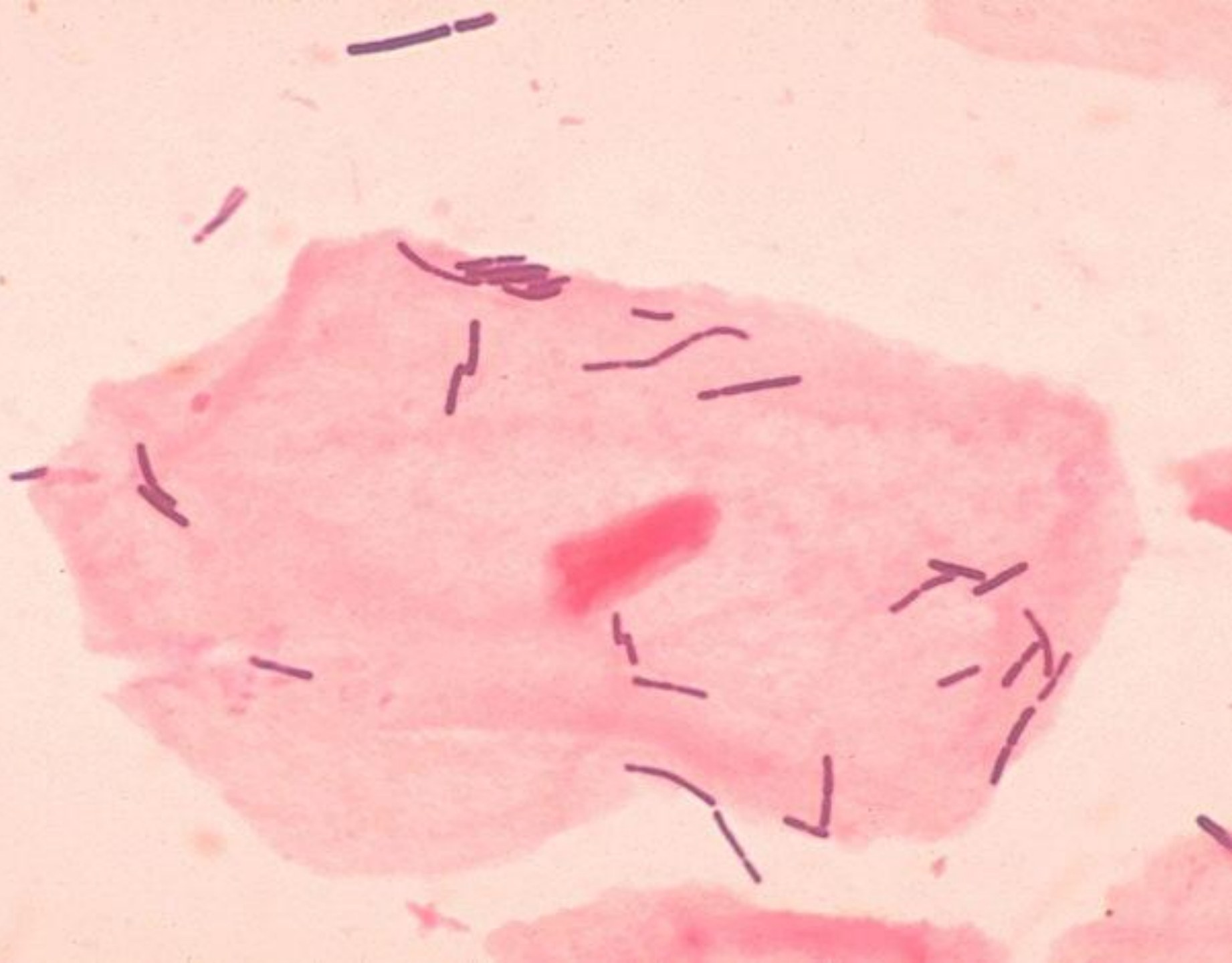
**Bacillus**



## По размерам

палочковидные бактерии  
распределяются на:

- мелкие – до 1,5 мкм;
- средних размеров (1,5 – 3 мкм);
- крупные (более 3 мкм).



# По форме концов бактериальной клетки выделяют:

- закругленные;
- обрубленные;
- утолщенные;
- расщепленные.

# Escherichia coli

Т. Эшерих (1885)



# Bacillus anthracis

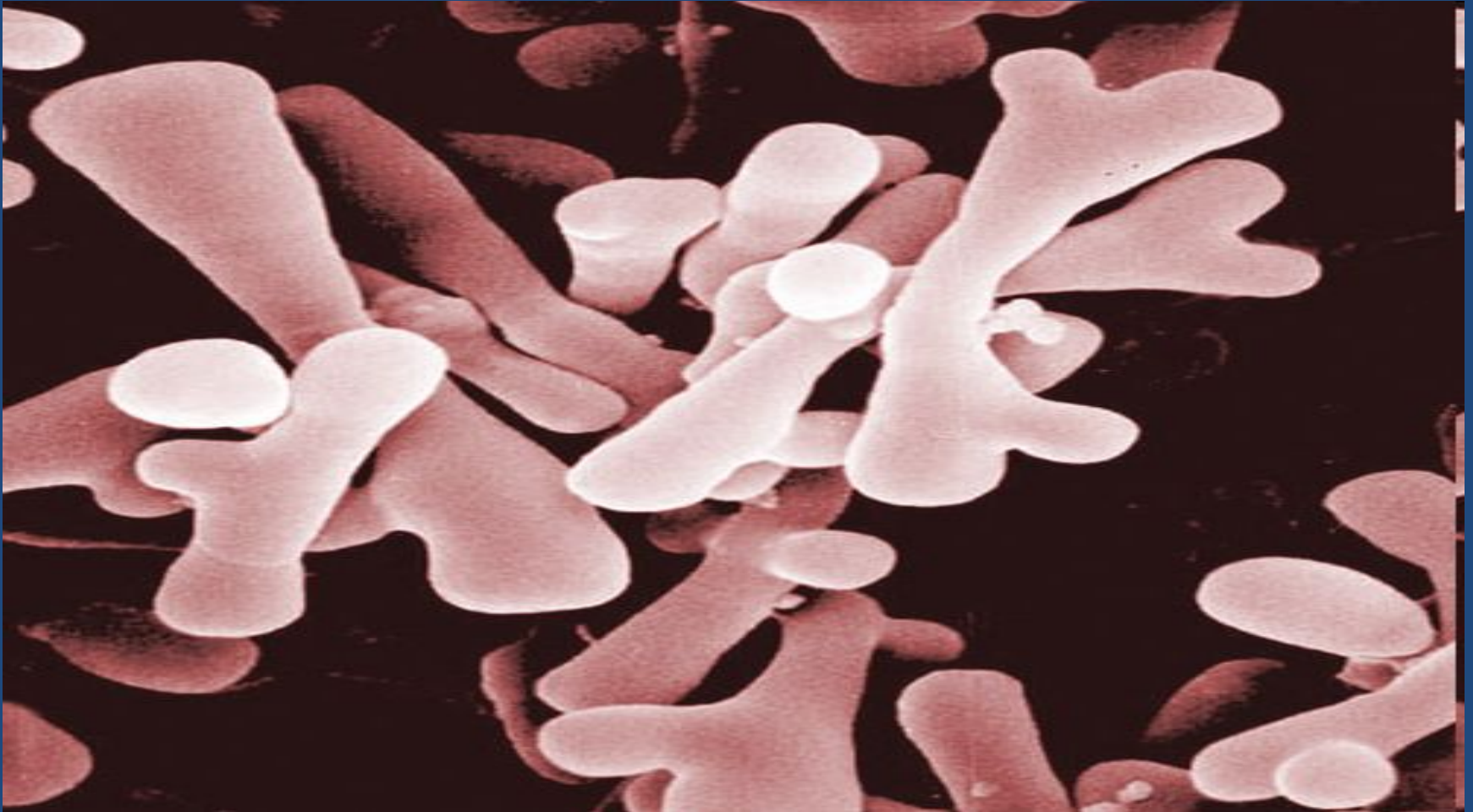




# Corynebacterium diphtheriae



# Bifidobacterium bifidum





# Палочковидные бактерии

## Стороны бактериальной клетки:

- параллельны, как в случае *Escherichia coli* или *Bacillus anthracis*
- выпуклы - похожие на бочонок *Yersenia pestis*
- вогнуты - *Corynebacterium diphtheria*

# *Yersenia pestis*

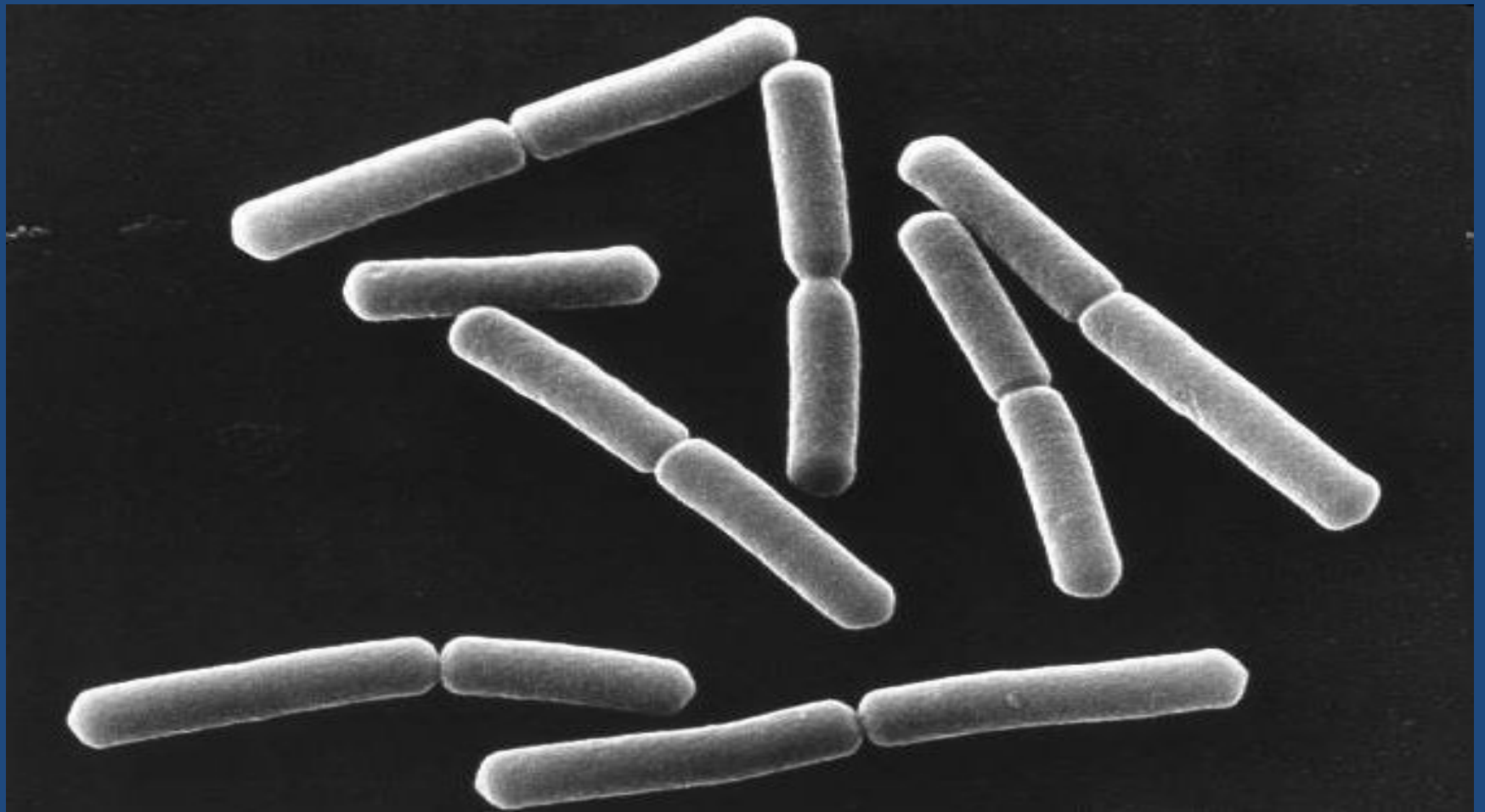


# Палочковидные бактерии

По взаимному расположению клеток:

- беспорядочно расположенные;
- попарно расположенные (диплобактерии);
- цепочками (стрептобактерии);
- под углом (L, V, X).

# диплобактерии



# Bacillus anthracis



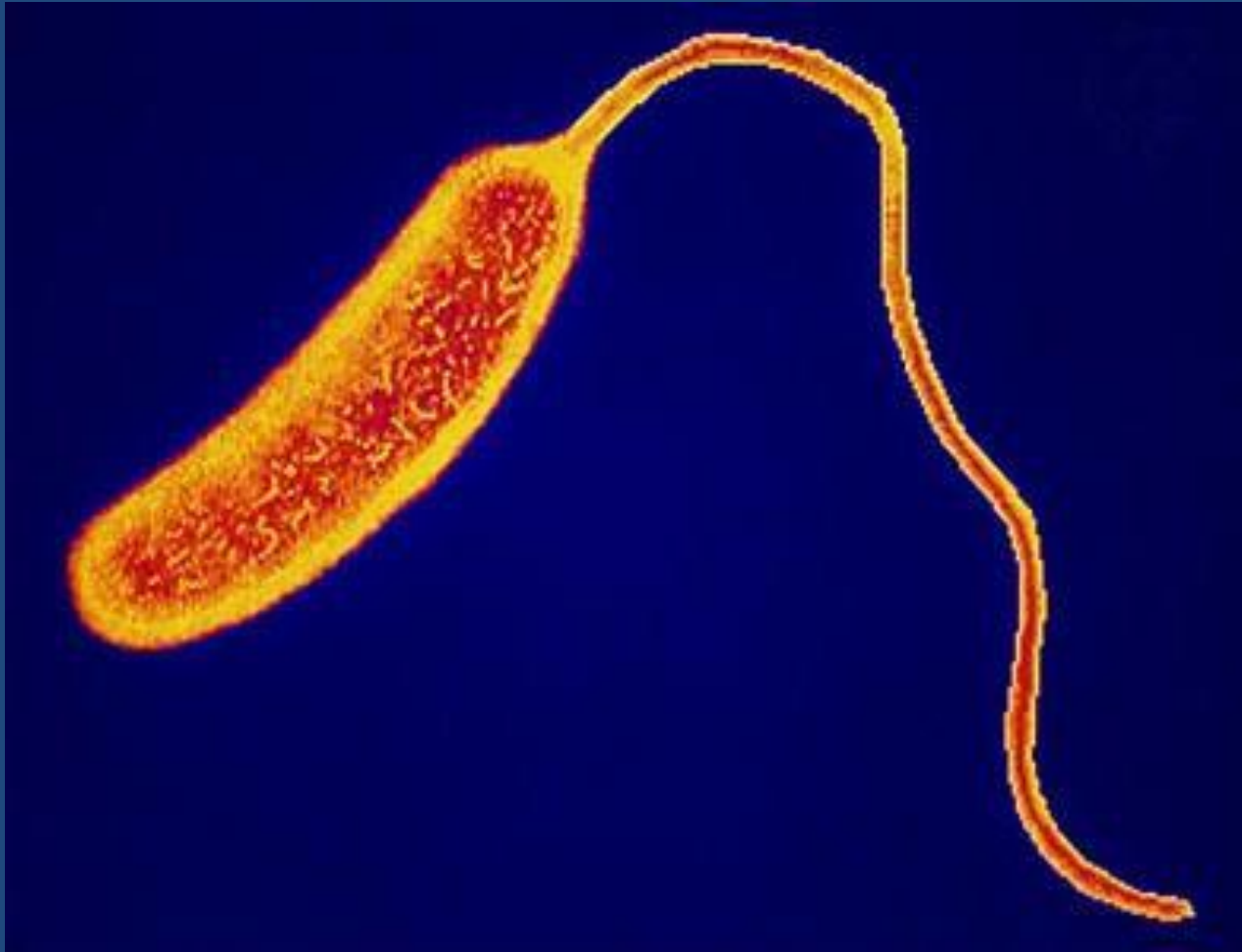


# Corynebacterium diphtheriae



# Изогнутые и извитые бактерии

# Изогнутые



Холерный вибрион *Vibrio cholerae*



# Извитые бактерии

- спираиллы

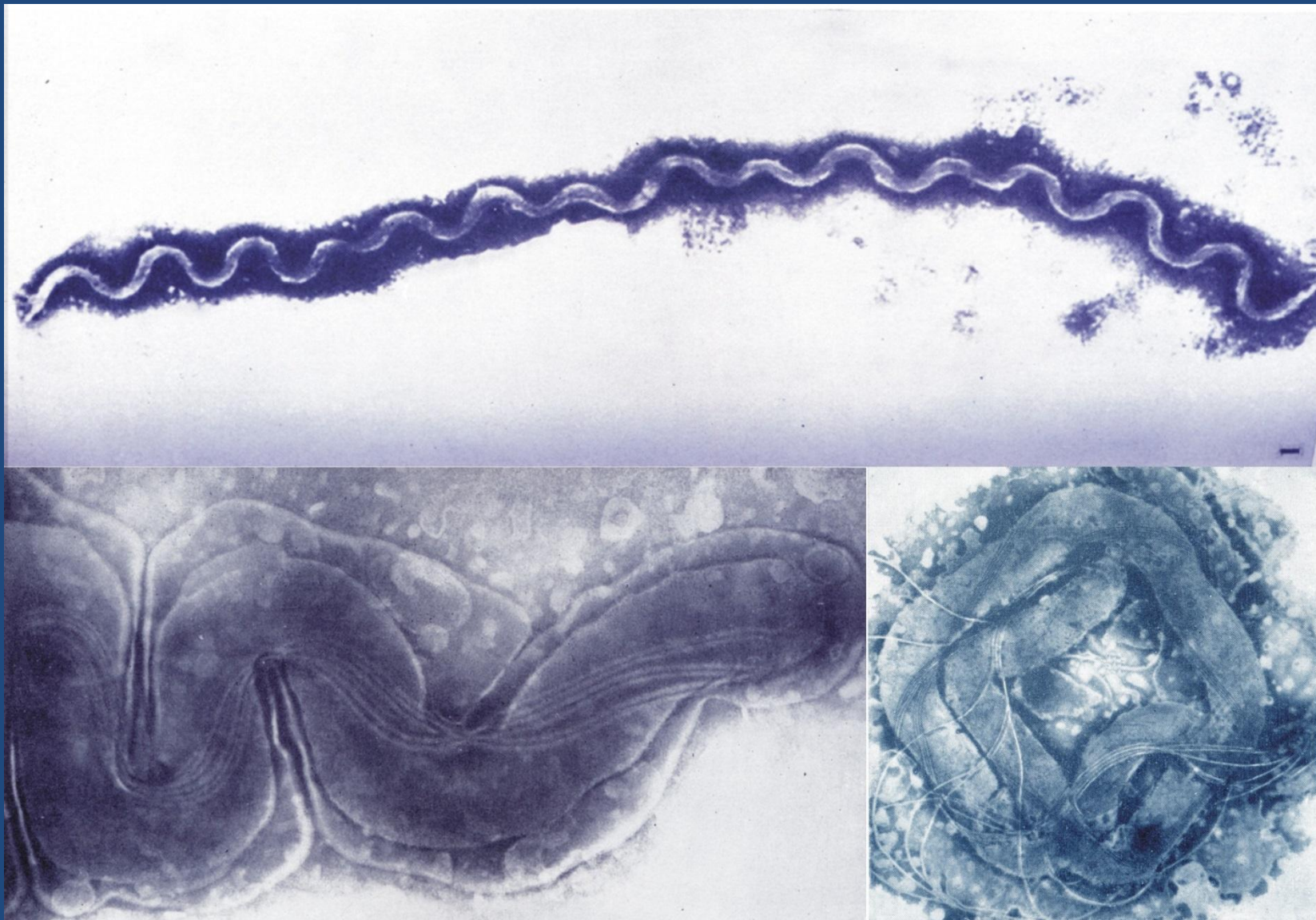
- спирохеты

**Спирохеты** - тонкие подвижные  
извитые микроорганизмы.

В эту группу входят  
представители трех родов:

- **Treponema**
- **Leptospira**
- **Borrelia**

# Трепоне́мы

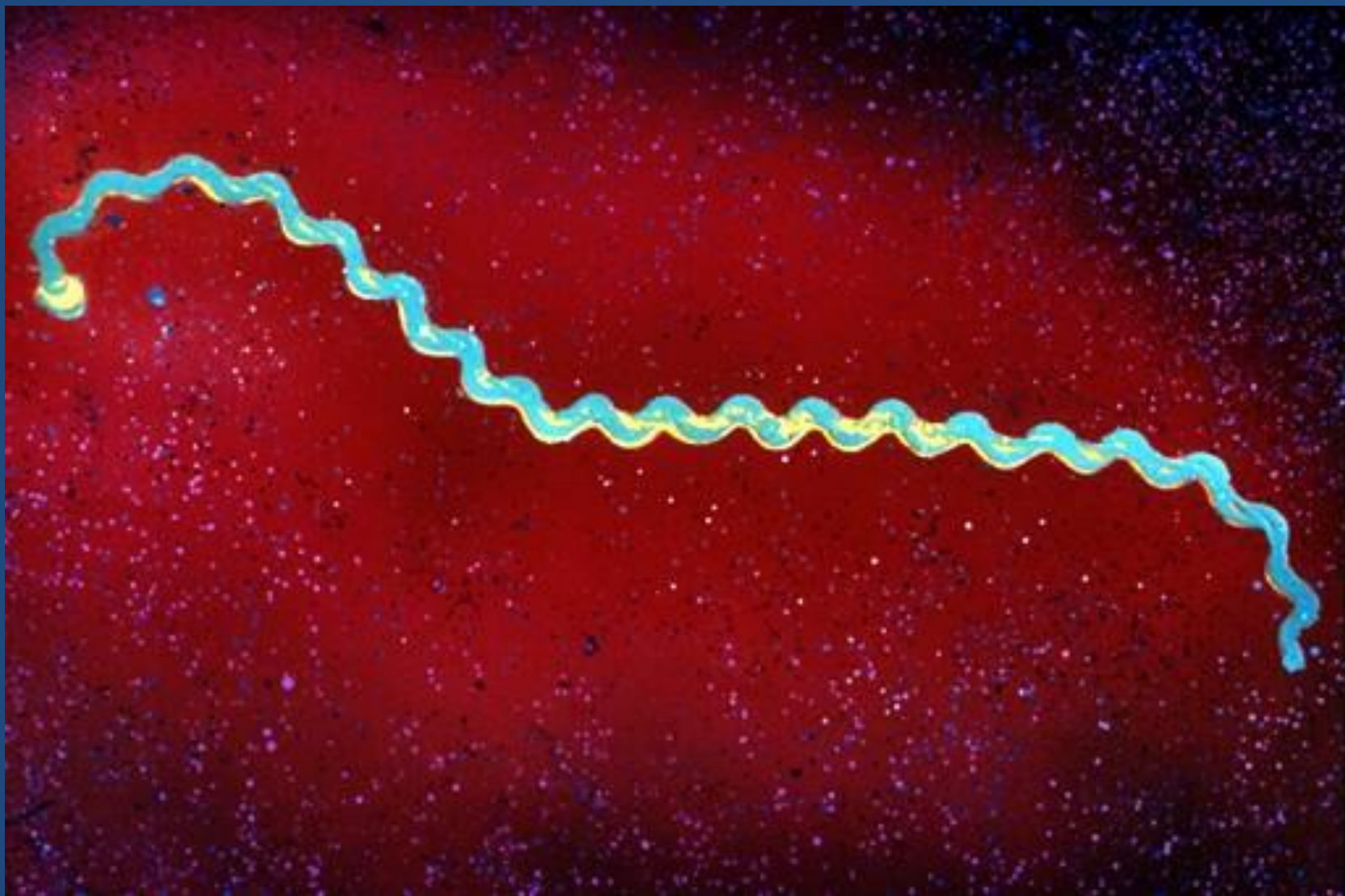


# Боррелии





# Лептоспиры



# Структурные элементы бактериальной клетки

# Структурные элементы бактериальной клетки

Главными отличиями прокариотической (бактериальной) клетки от эукариотической является отсутствие:

- оформленного ядра (отсутствие ядерной мембраны),
- ядрышек,
- комплекса Гольджи,
- лизосом,
- митохондрий.



# Структурные элементы бактериальной клетки

- Нуклеоид
- Цитоплазма
- Клеточная мембрана
- Клеточная стенка
- Включения
- Рибосомы
- Плазмиды
- Поверхностные структуры

# Структурные элементы бактериальной клетки

- **Нуклеоид** – гигантская кольцевая молекула ДНК – геном бактериальной клетки (около 1000 генов). Нуклеоид не отделен от цитоплазмы мембраной.
- **Цитоплазма** – коллоид, т.е. водный раствор белков, углеводов, липидов, минеральных веществ, в котором находятся рибосомы, включения, плазмиды.

# Структурные элементы бактериальной клетки

- **Рибосомы** прокариот отличаются от эукариотических размерами (70 S). На рибосомах происходит биосинтез белка.
- **Включения** – запасные питательные вещества бактериальной клетки - гранулы волютина (неорганического полифосфата), гликоген, крахмал, капли жира, скопления пигмента и т.д.

# Плазмиды

- Небольшие кольцевые молекулы ДНК, способные к автономной репликации в цитоплазме.
- Могут нести полезную для бактериальной клетки информацию (гены устойчивости к антибиотикам).
- Участвуют в обмене генетической информацией между бактериальными клетками.

# Структурные элементы бактериальной клетки

- **Клеточная мембрана (КМ)** – ограничивает цитоплазму. Состоит из двойного слоя фосфолипидов и встроенных мембранных белков.
- **Мезосомы** - впячивания клеточной мембраны в цитоплазму. Мезосомы служат для увеличения поверхности КМ и повышения скорости обменных процессов.

# Функции клеточной мембраны

- Избирательная проницаемость.
- Транспорт питательных веществ.
- **Энергетическая** – на внутренней поверхности расположены ферменты дыхательной цепи и происходит синтез АТФ.

# Клеточная стенка

## Функции:

- формообразующая;
- защита от осмотического шока;
- участие в регуляции роста и делении бактерий;
- рецепторная.



# Строение клеточной стенки

В 1884 году  
датский бактериолог  
Ганс Кристиан Грам  
предложил  
метод окраски  
бактерий



- После окраски по Граму бактерии, имеющие толстую клеточную стенку окрашиваются в фиолетовый цвет – их называют

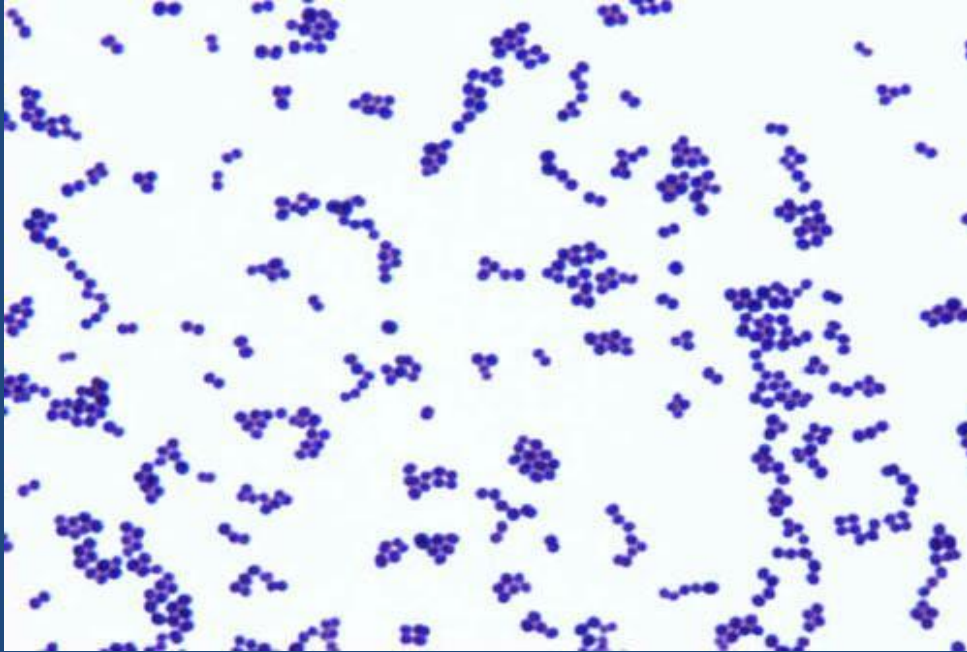
## Грам-положительными (Грам+)

- Бактерии, имеющие тонкую клеточную стенку окрашиваются в красный цвет – их называют

## Грам-отрицательными (Грам -)

**Грам**

**+**



***Staphylococcus***

**Грам**

**-**



***Escherichia***

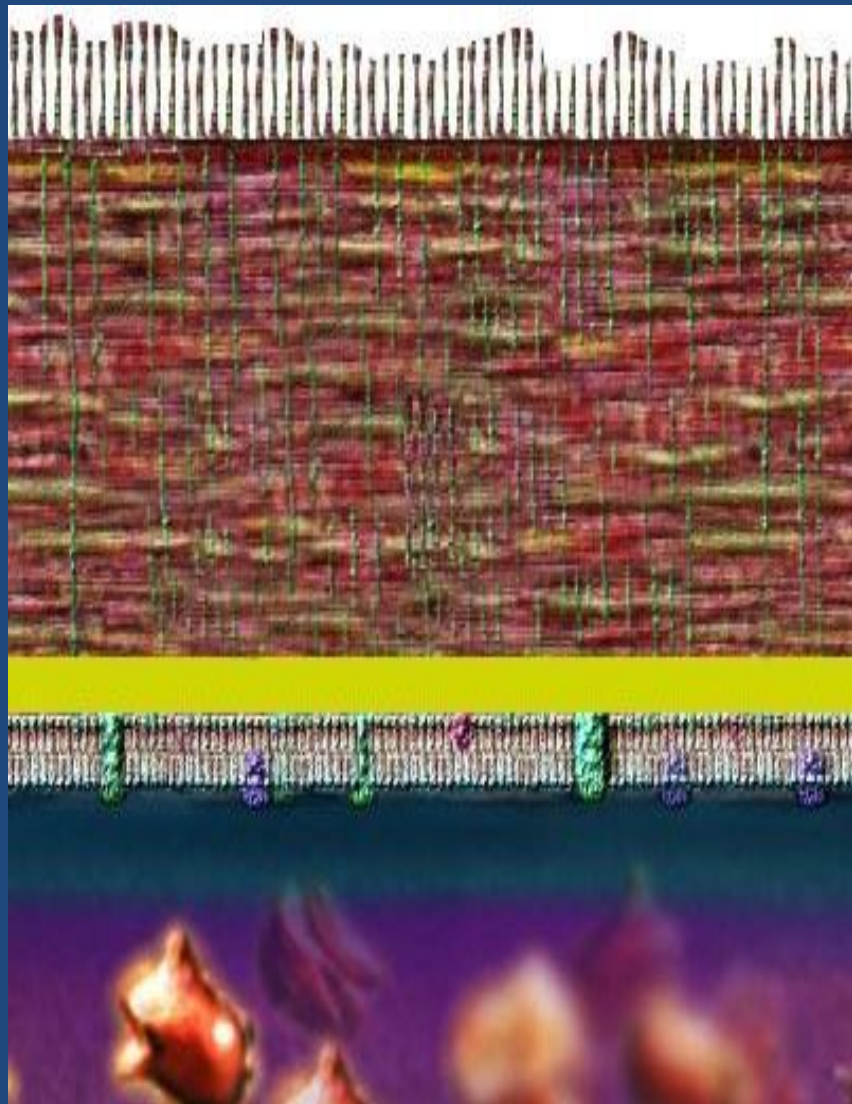
# Клеточная стенка грамположительных бактерий

- Состоит из многослойного **пептидогликана** (муреина), пронизанного молекулами **тейхоевой и липотейхоевой** кислот.
- Пептидогликан клеточной стенки образован параллельно расположенными молекулами гликана, состоящего из остатков **N-ацетилглюкозамина** и **N-ацетилмурамовой кислоты**.

# Клеточная стенка грамположительных бактерий

- Тейхоевые кислоты (греч. *teichos* - стенка) представляют собой цепи из остатков **глицерола и рибитола**, соединенных фосфатными мостиками.
- Пептидогликан и тейхоевые кислоты в конечном итоге формируют так называемый **муреиновый мешок**, покрывающий клетку снаружи.
- Тейхоевые кислоты выполняют также антигенную и адгезивную функции грамположительных бактерий.

# Клеточная стенка Грам+ бактерий



← Тейхоевые  
кислоты

← Пептидоглик  
ан

← Периплазматическ  
ое

← пространство  
клеточная  
мембрана

Среди **грамположительных** бактерий выделяют бактерии с **кислотоустойчивым** типом клеточной стенки.

К ним относятся микобактерии и коринебактерии.



# **Клеточная стенка кислотоустойчивых бактерий**

**Отличается по строению от клеточных стенок и грамположительных, и грамотрицательных бактерий.**

**Выделяют три основных структурных компонента:**

- пептидогликан,**
- арабиногалактан (полисахарид),**
- МИКОЛОВЫЕ КИСЛОТЫ.**

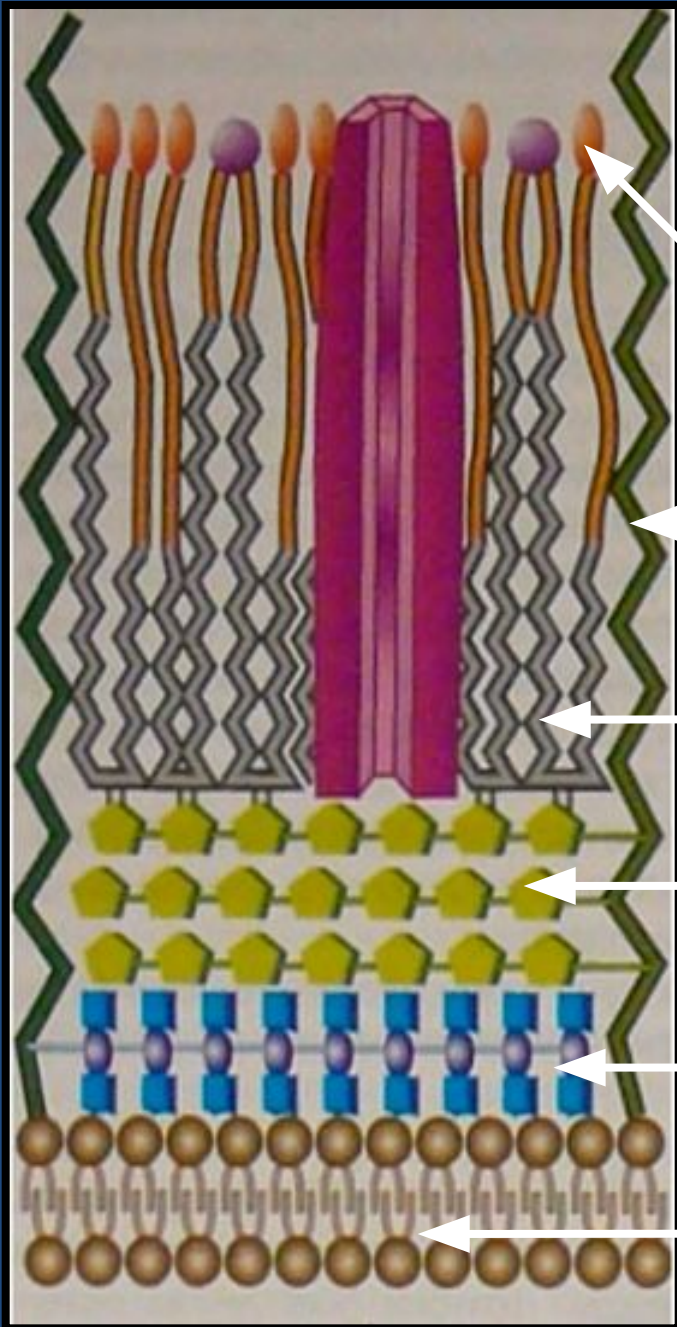
# Клеточная стенка кислотоустойчивых бактерий

- Наружные слои клеточной стенки представлены поверхностными гликолипидами (сульфолипидами).
- В средней части клеточной стенки основными компонентами являются разветвленные жирные (миколовые) кислоты.
- Миколовые кислоты обеспечивают высокую химическую устойчивость.

# Клеточная стенка кислотоустойчивых бактерий

- Внутренние слои образованы арабиногалактаном и пептидогликаном. Пептидогликан непосредственно примыкает к цитоплазматической мембране.
- Липоарабиноманнан заякорен на цитоплазматической мембране, пронизывает клеточную стенку и выходит на ее поверхность. Концевые фрагменты липоарабиноманнана подавляют активацию Т-лимфоцитов и лейкоцитов, вызывая нарушения иммунного ответа.

# Строение клеточной стенки *Mycobacterium tuberculosis*



Поверхностные гликолипиды

Липоарабиноманнан

Миколовые кислоты (миколаты)

Арабиногалактан

Пептидогликан

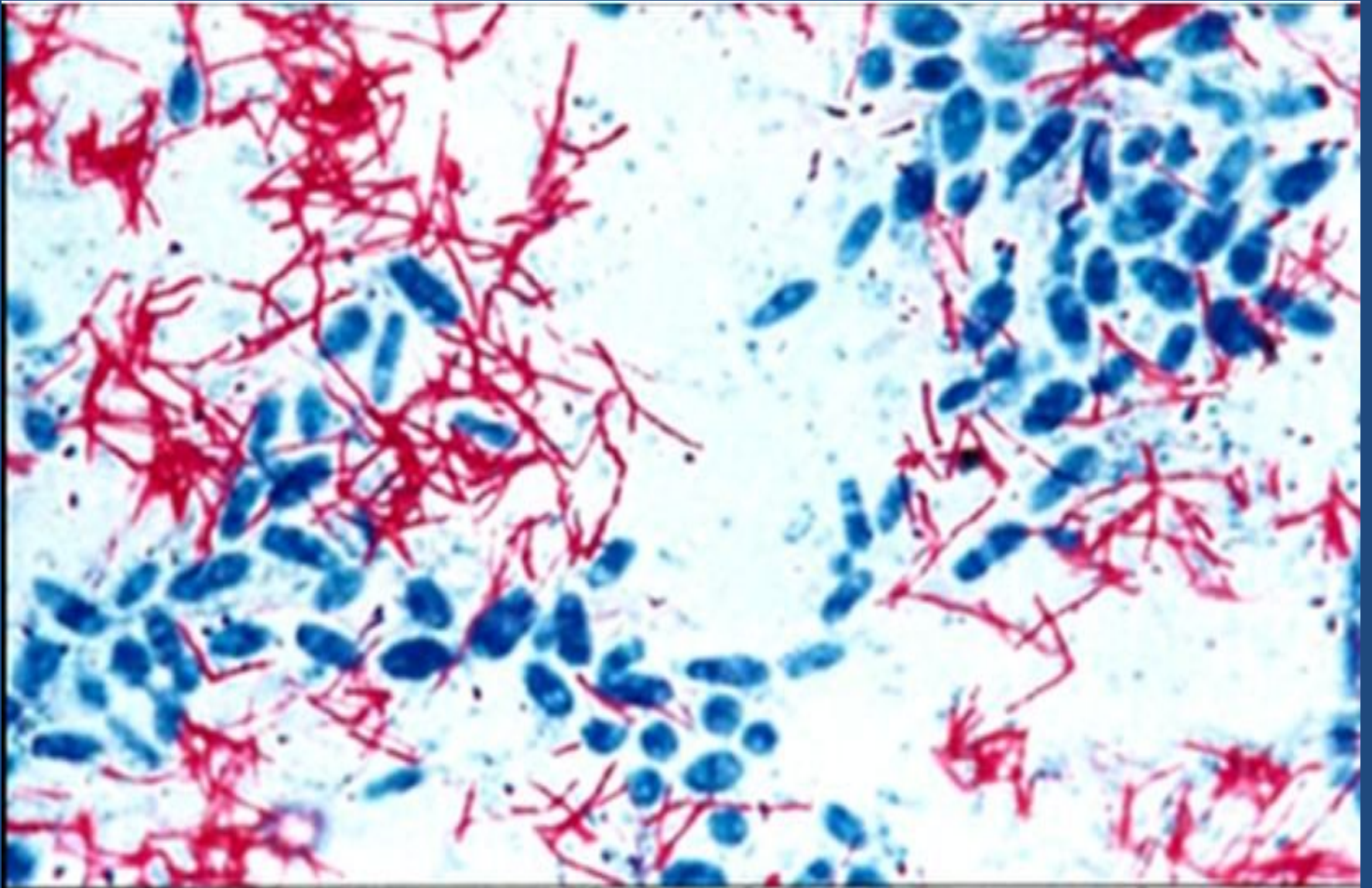
Цитоплазматическая мембрана

# Клеточная стенка микобактерий

- Такая клеточная стенка гидрофобна и плохо проницаема для различных веществ, что обуславливает сниженный метаболизм в клетке, трудности окраски и устойчивость к физическим и химическим факторам.
- По **методу Грама** данные бактерии окрашиваются **плохо** (условно грамположительны).
- Для окрашивания применяют **метод Циля – Нельсена** для выявления кислотоустойчивых бактерий.



# метод Циля – Нельсена

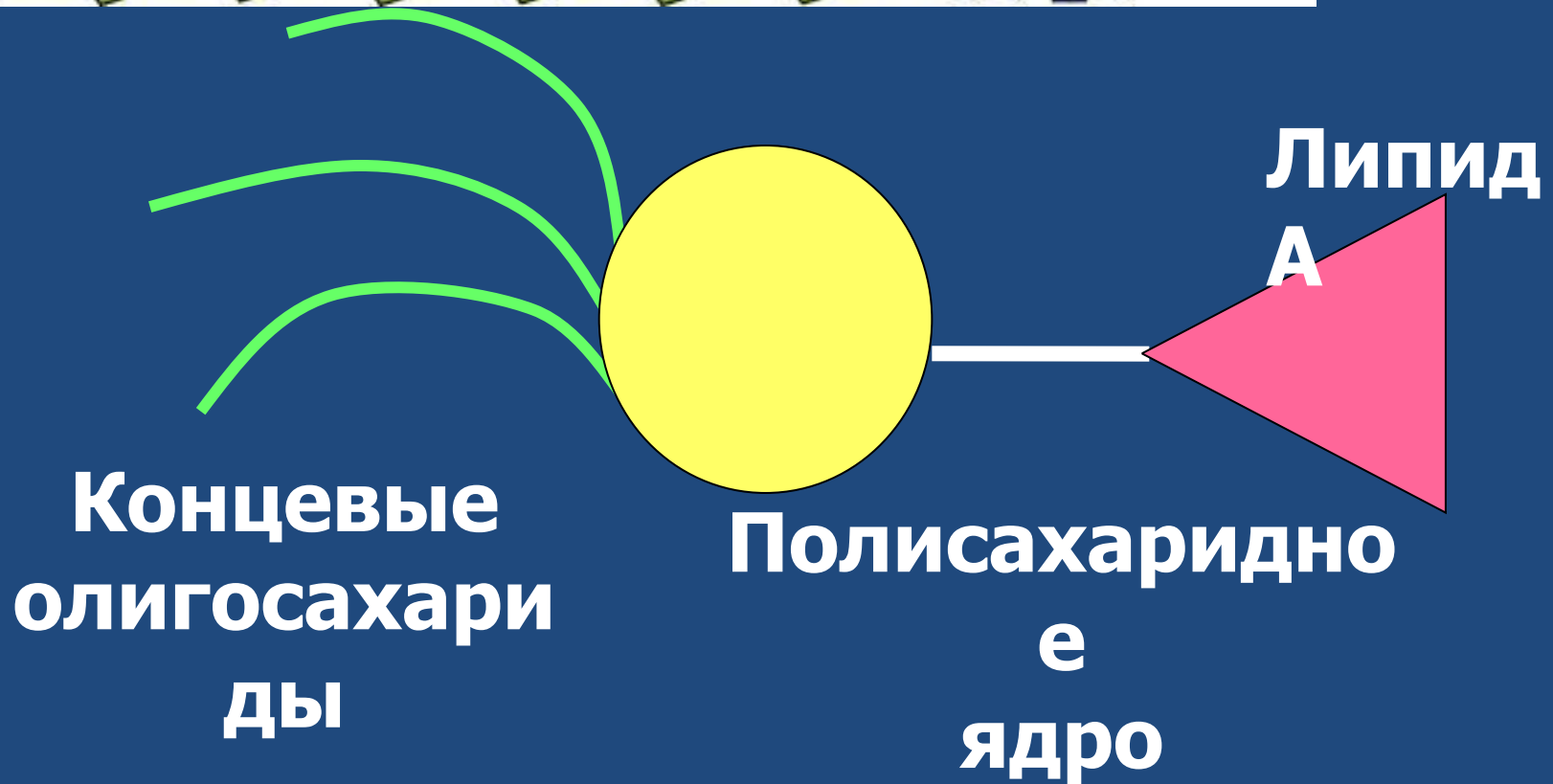


# Клеточная стенка грамотрицательных бактерий

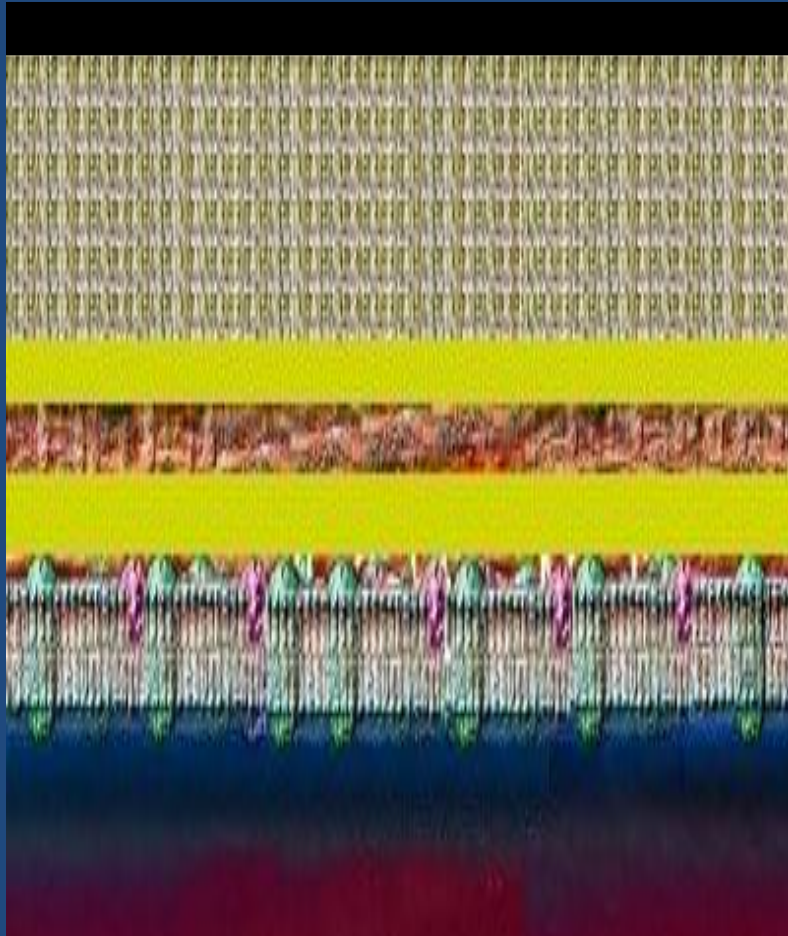
- В ней выделяют внешнюю (наружную) мембрану и тонкий пептидогликановый слой или муреиновый мешок.
- Пептидогликан грамотрицательных бактерий является однослойным и **не содержит тейхоевых кислот.**
- Внешняя мембрана грамотрицательных бактерий представляет собой фосфолипидный бислой, содержащий белки и **липополисахарид.**



# Липополисахарид – эндотоксин



# Клеточная стенка Грам- бактерий



Наружная  
мембрана

Пептидоглик  
ан

Периплазматическ  
ое

пространство

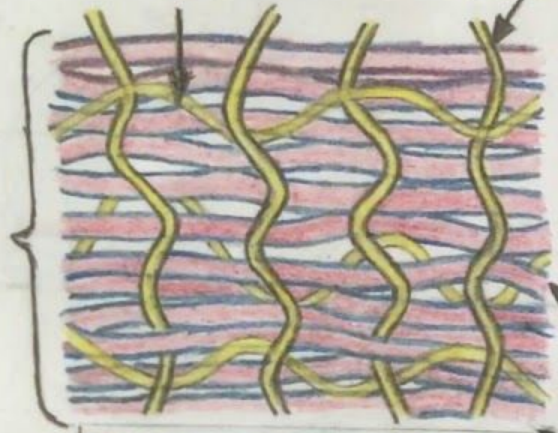
Клеточная  
мембрана

Цитоплазм  
а

клеточная стенка

Тейхоевая кислота

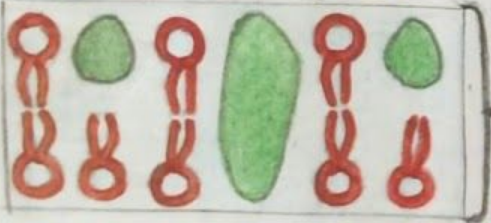
Липотейхоевая кислота



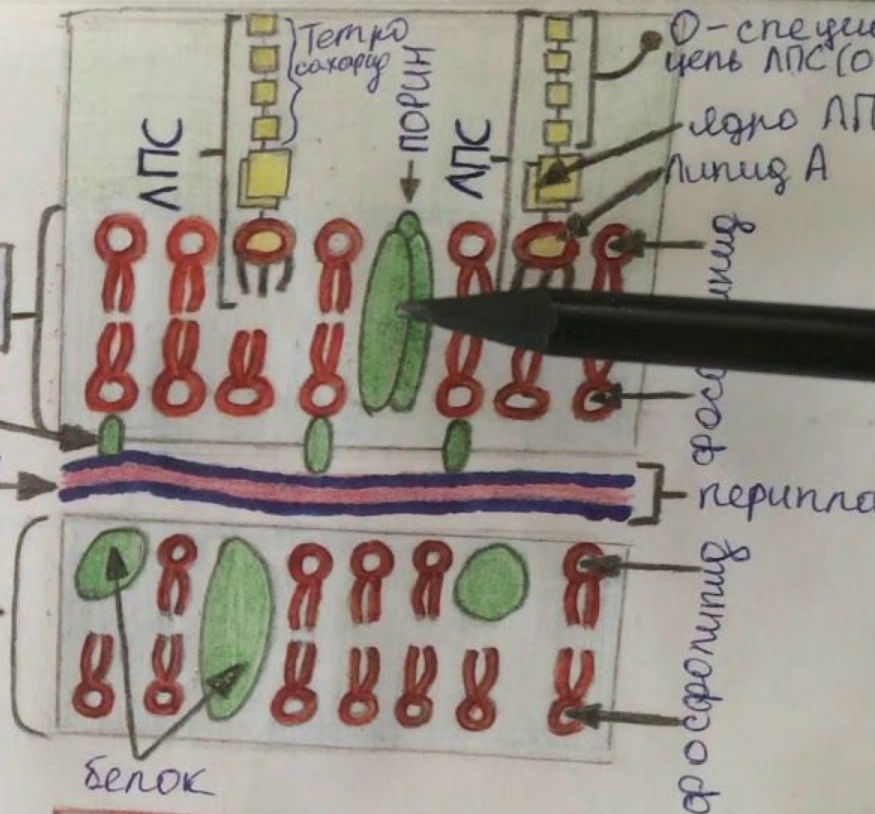
наружная мембрана

Липопротеин  
Пептидогликан

цитоплазматическая мембрана



ГРАМ+



ГРАМ-

3.5 Схема строения оболочек грамположительных

**По строению бактериальной оболочки различают еще несколько морфологических типов бактерий:**

- бактерии, не имеющие клеточной стенки (микоплазмы);**
- грамотрицательные бактерии, имеющие клеточную стенку, лишенную пептидогликана и состоящую только из внешней мембраны (хламидии).**

## **Бактерии без клеточной стенки – микоплазмы.**

- **Особенностью микоплазм является то, что в составе их оболочки отсутствует клеточная стенка.**
- **Снаружи у микоплазм располагается трехслойная цитоплазматическая мембрана, содержащая значительное количество липидов, в том числе холестерин.**



- Бактерии с клеточной стенкой, содержащей внешнюю мембрану, но лишенной пептидогликана – **хламидии**.
- Оболочка хламидий состоит из двуслойной цитоплазматической мембраны и клеточной стенки в виде внешней мембраны.
- Клеточная стенка хламидий лишена **пептидогликана** и представляет собой двухслойную внешнюю мембрану, содержащую пептиды, перекрестно сшитые дисульфидными мостиками.
- Клеточная стенка хламидий содержит также гликолипиды, сходные с ЛПС других грамотрицательных бактерий

**Бактерии, лишенные полностью или частично клеточной стенки, называются L- формами**

- L- форма Грам+ бактерий называется **протопласт**
- L- форма Грам- бактерий называется **сферопласт**



**Поверхностные  
структуры  
бактериальной клетки**

# Поверхностные структуры бактериальной клетки

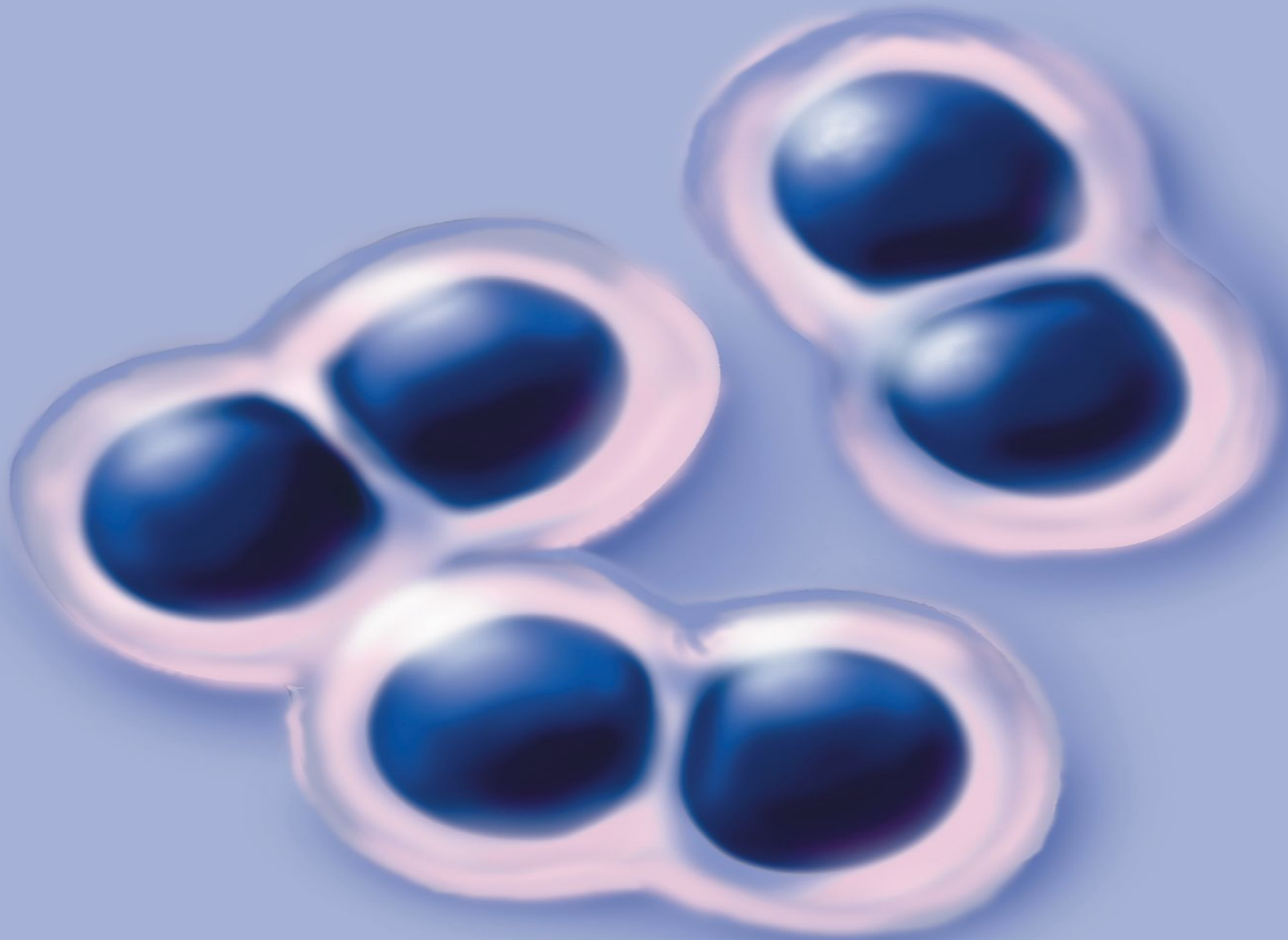
- Капсула
- Пили
- Жгутики

# Капсула

- Поверхностная структура гелеобразной консистенции.
- Состав: полисахариды или белки
- Функция: **защита от фагоцитоза** и факторов внешней среды.

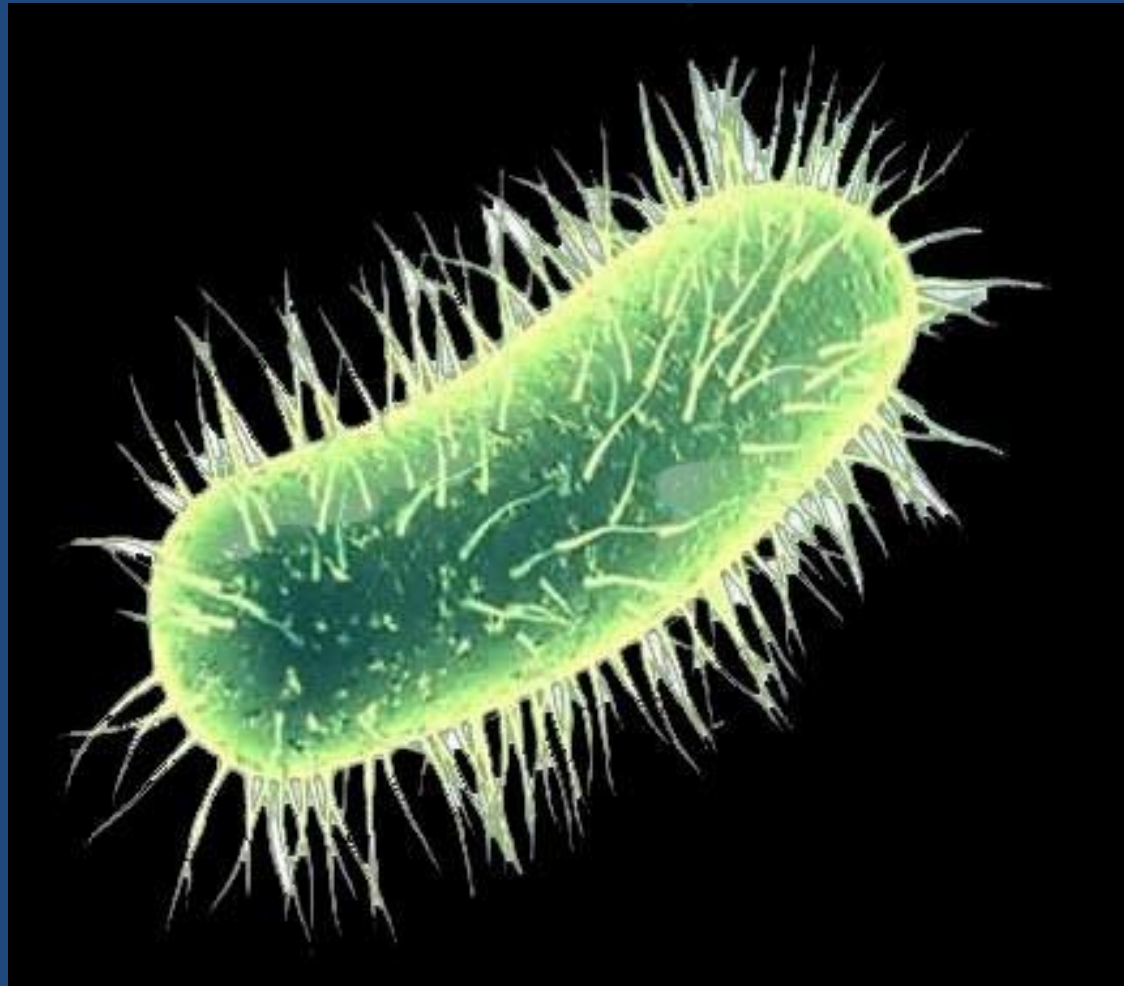
**Макрокапсула** различима при световой микроскопии.

**Микрокапсула** – только при электронной микроскопии.

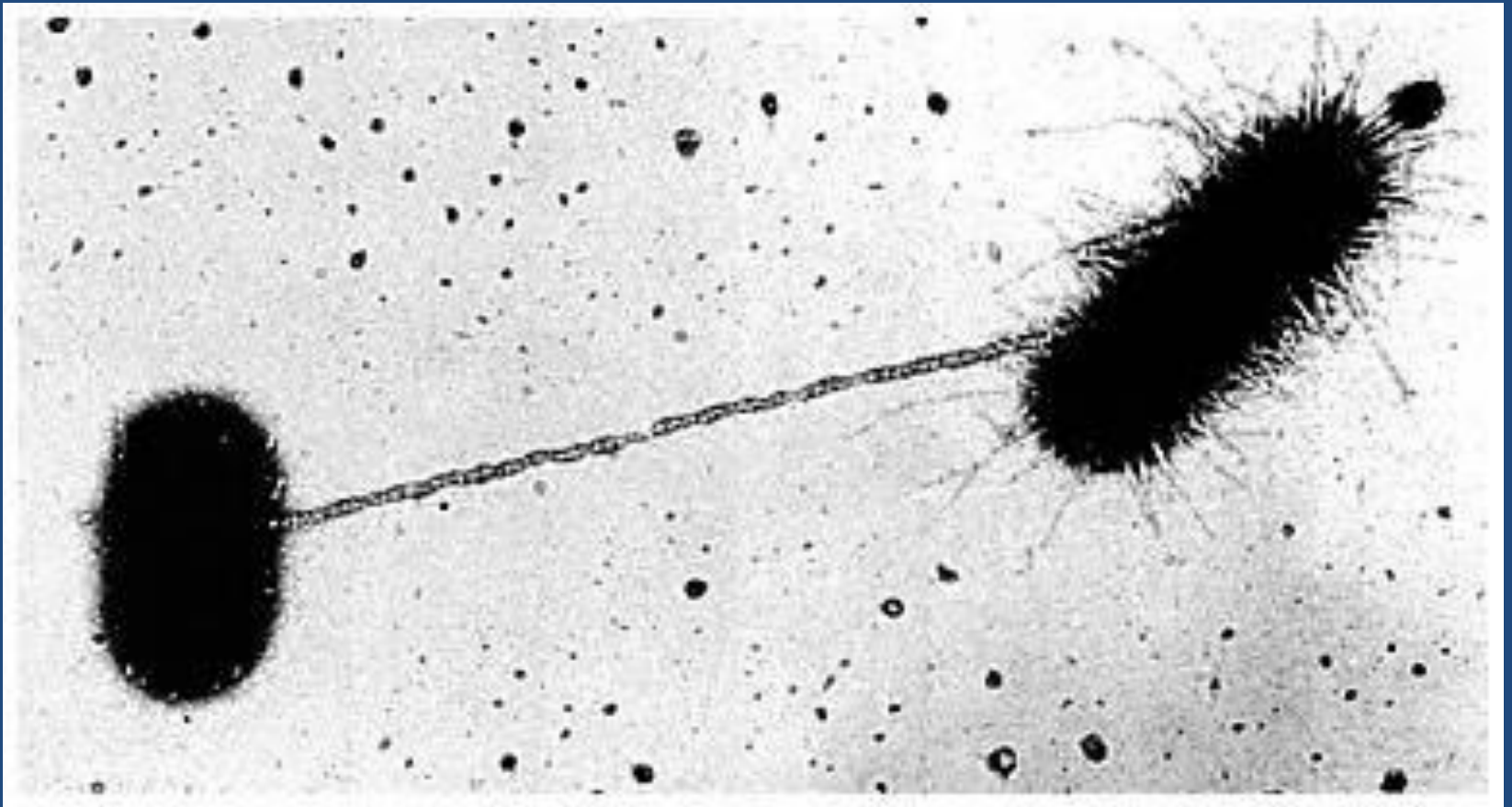


# Органы прикрепления к субстрату – пили (фимбрии, ворсинки)

Белок -  
**ПИЛИ**  
**Н**



# F – пили (пили фертильности)



Участвуют в обмене генетической информацией между бактериальными клетками

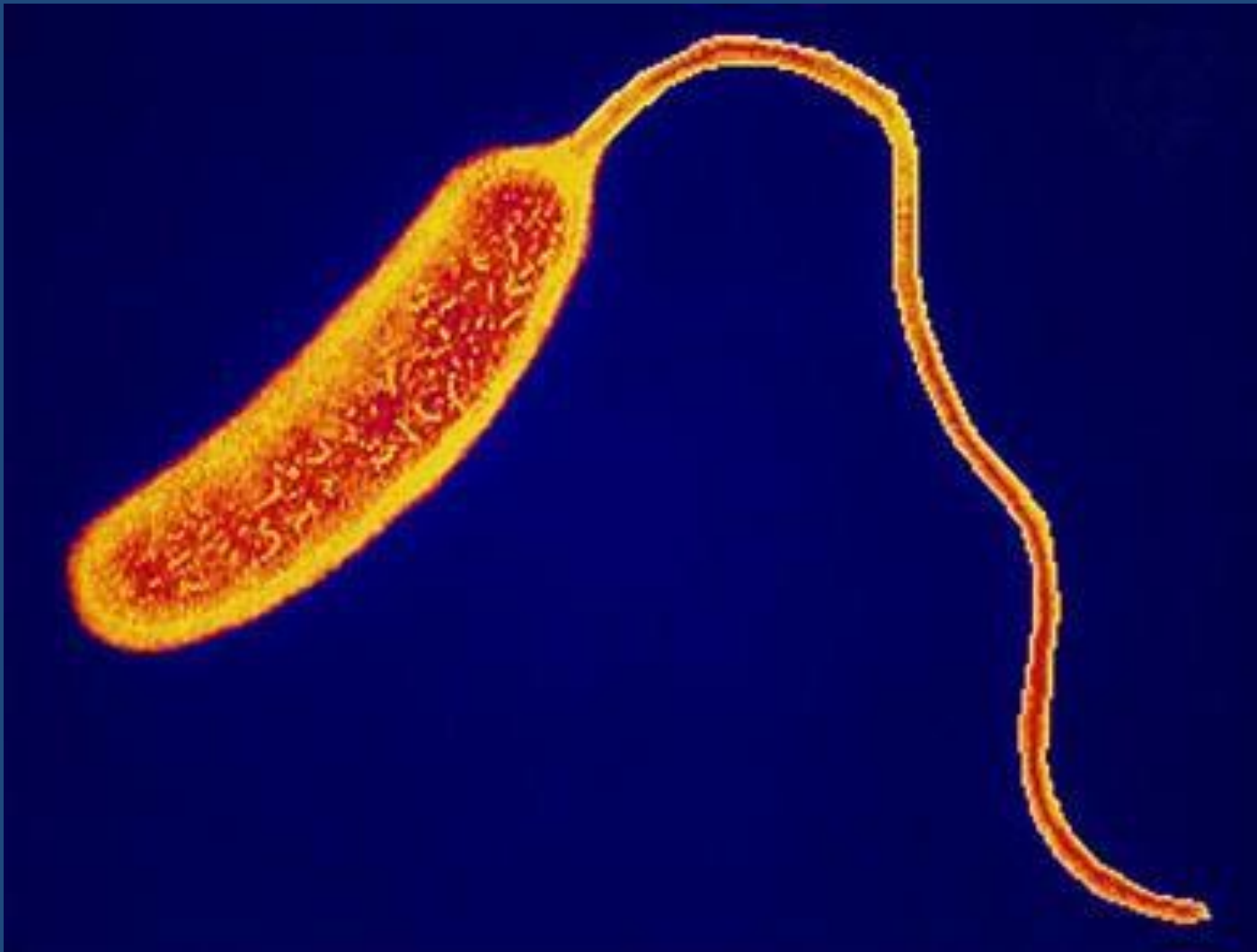
# Органы движения

**Жгутики** – спиральные нити

Белок - **флагеллин**



# Монотрих (Trichos – волос)



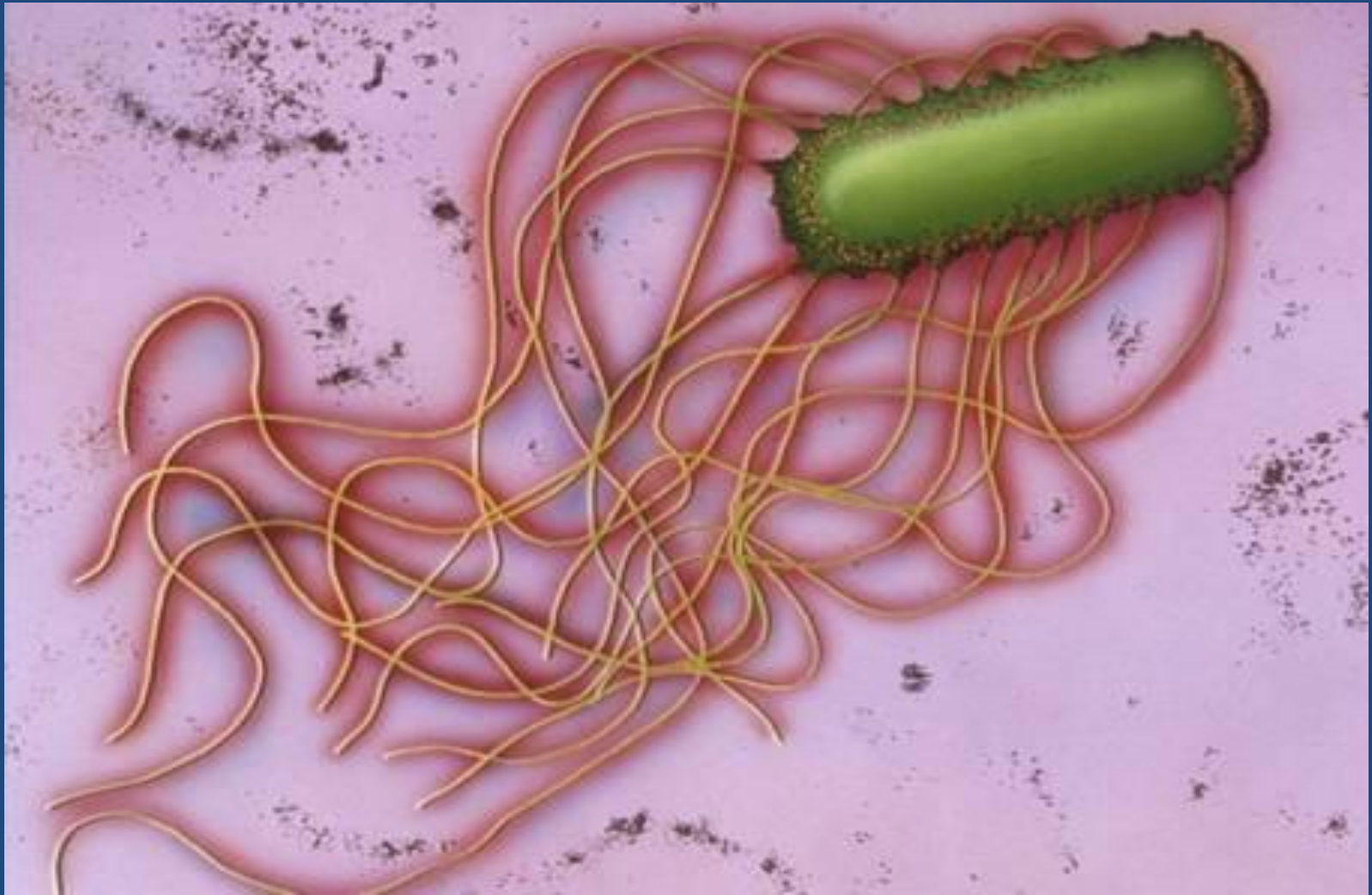
# Лофотрихи (Lophos – кисточка)



# Амфитрих (Amphi — с обеих сторон)



# Перитрих



# Спорообразование у бактерий



При неблагоприятных условиях некоторые бактерии способны образовывать споры - покоящиеся клетки.

Одна клетка образует одну спору, т.е. спорообразование у бактерий не является формой размножения, а служит для сохранения вида.

- Способность к спорообразованию является **ВИДОВЫМ** признаком.
- Например: к спорообразованию способны представители родов *Bacillus* и *Clostridium*.



# Спорообразование



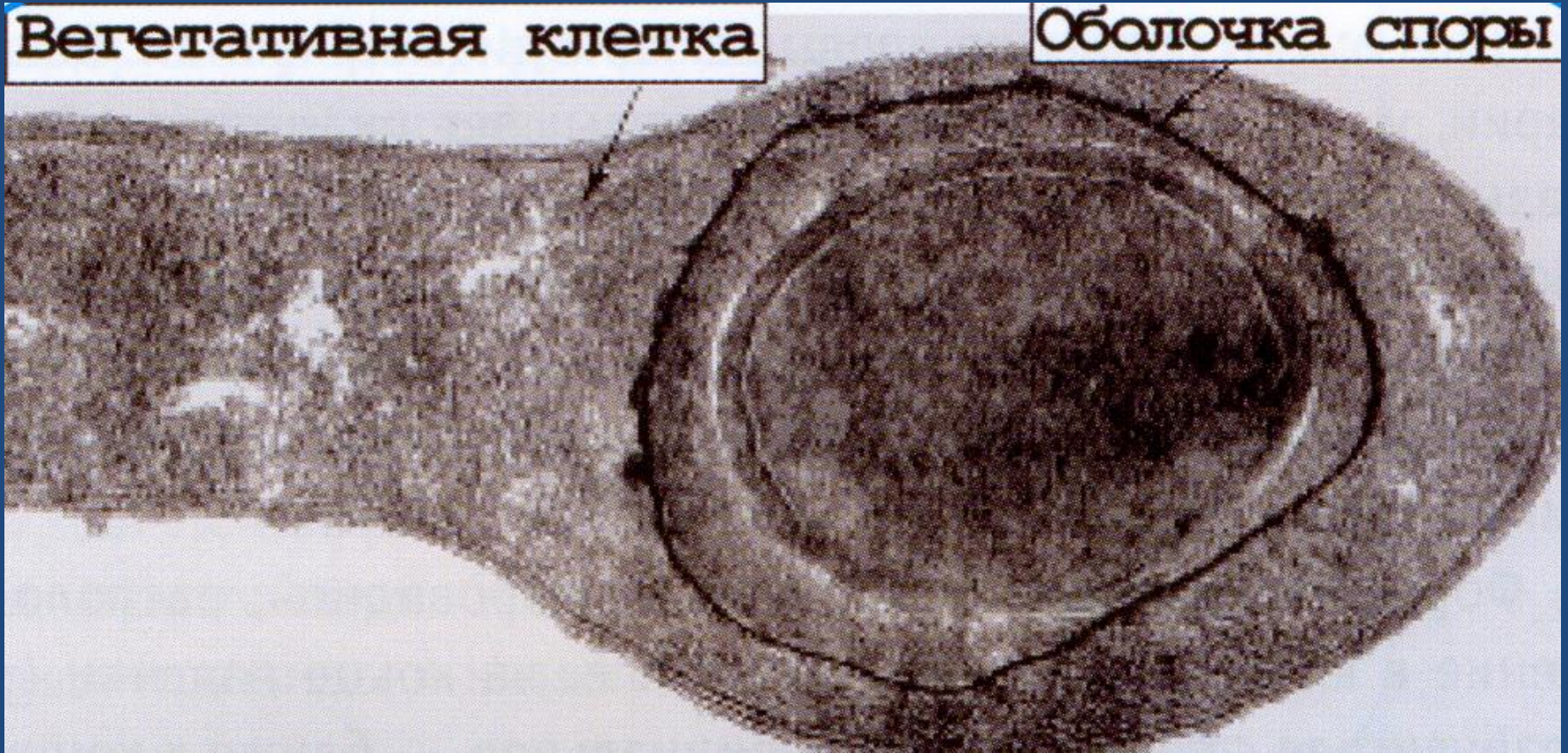
*Bacillus*



# Спорообразование

Вегетативная клетка

Оболочка споры

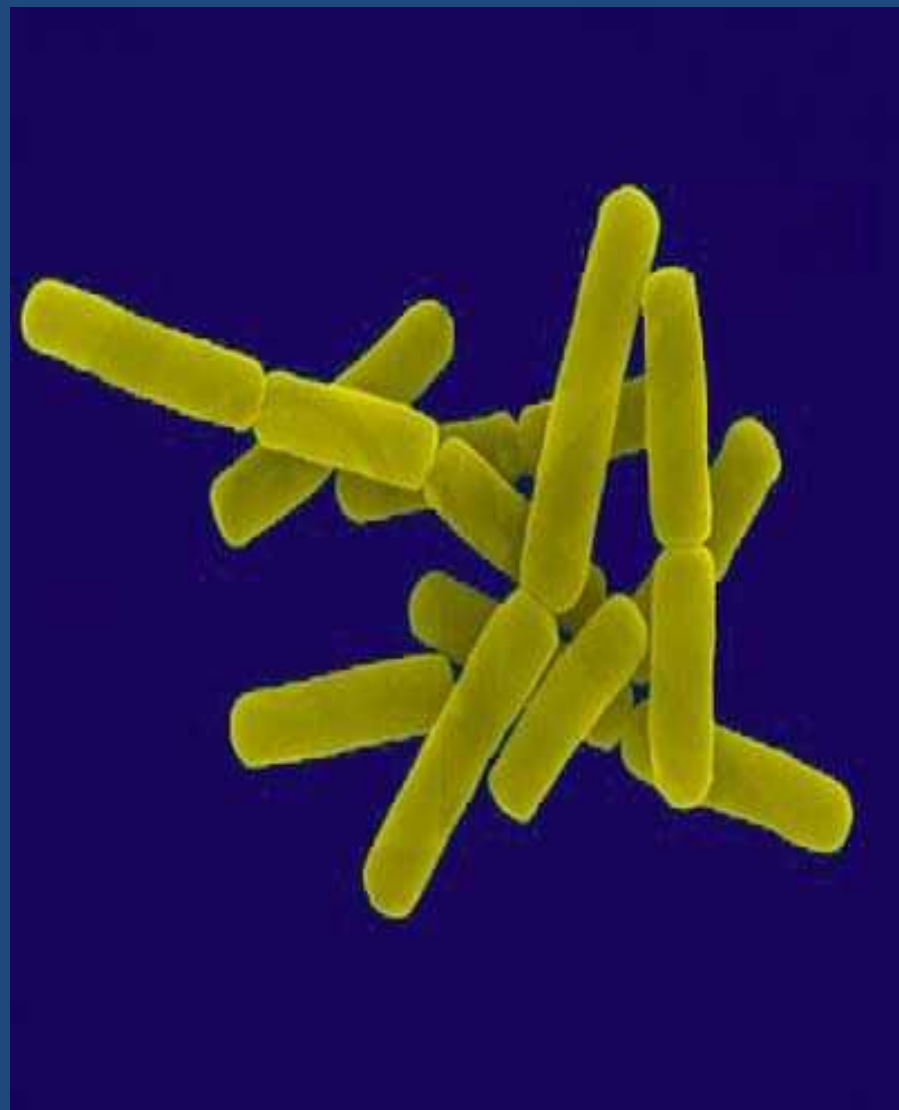


*Clostridium*

*Clostridium*

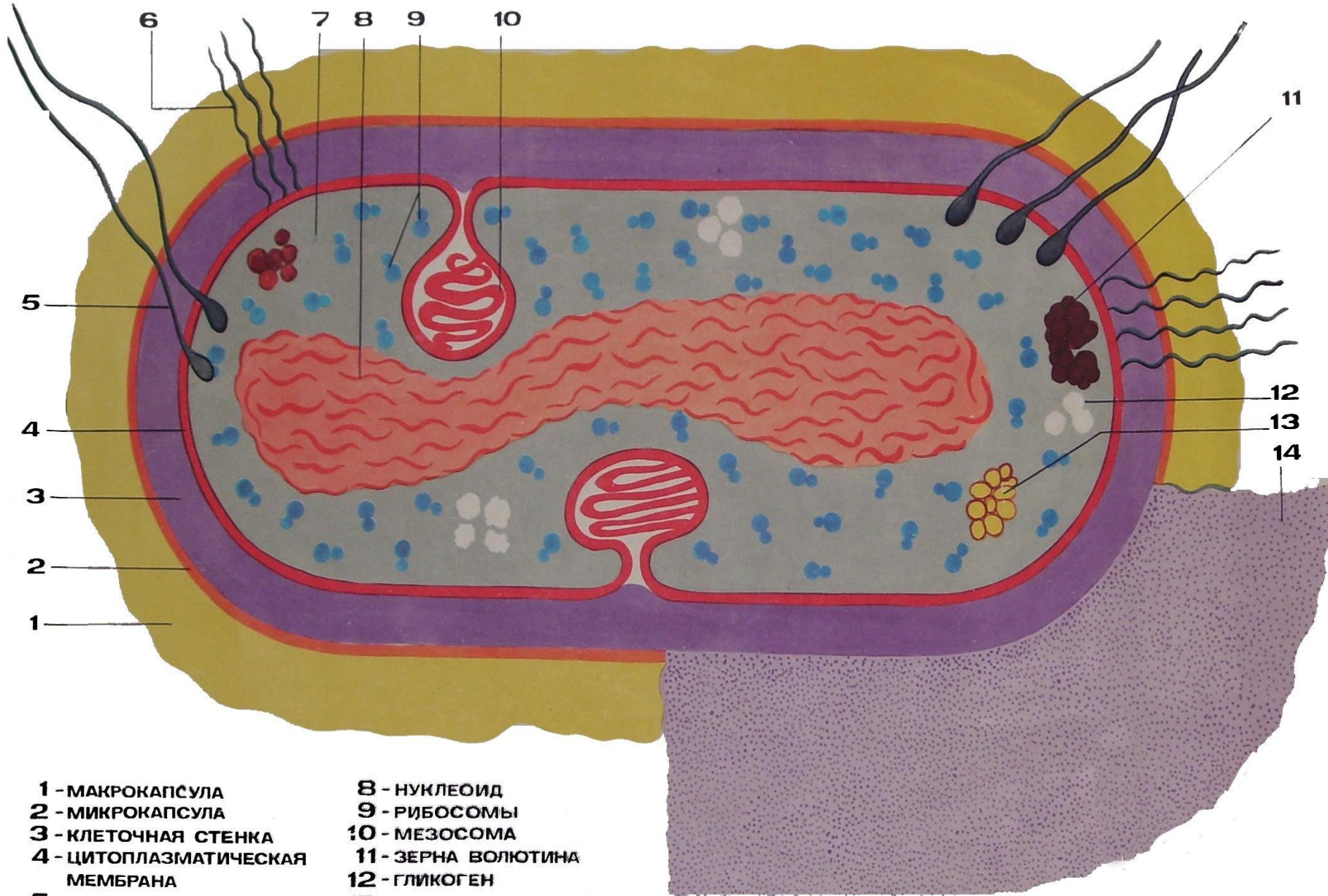
и

*Bacillus*





# СХЕМА СТРОЕНИЯ БАКТЕРИАЛЬНОЙ КЛЕТКИ



1 - МАКРОКАПСУЛА  
2 - МИКРОКАПСУЛА  
3 - КЛЕТОЧНАЯ СТЕНКА  
4 - ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКАЯ  
  МЕМБРАНА  
5 - ЖГУТИКИ  
6 - ВОРСИНКИ  
7 - ЦИТОПЛАЗМА

8 - НУКЛЕОИД  
9 - РИБОСОМЫ  
10 - МЕЗОСОМА  
11 - ЗЕРНА ВОЛЮТИНА  
12 - ГЛИКОГЕН  
13 - КАПЛИ ЖИРА  
14 - СЛИЗИСТЫЙ СЛОЙ

# Методы определения вида микроорганизмов

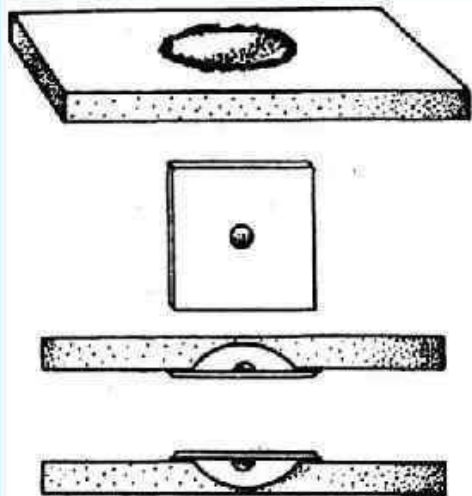
- Бактериоскопический метод
- Бактериологический метод
- Серологический метод
- Биологический метод
- Метод кожно-аллергических проб
- Молекулярно-биологический метод

# **Бактериоскопический метод**

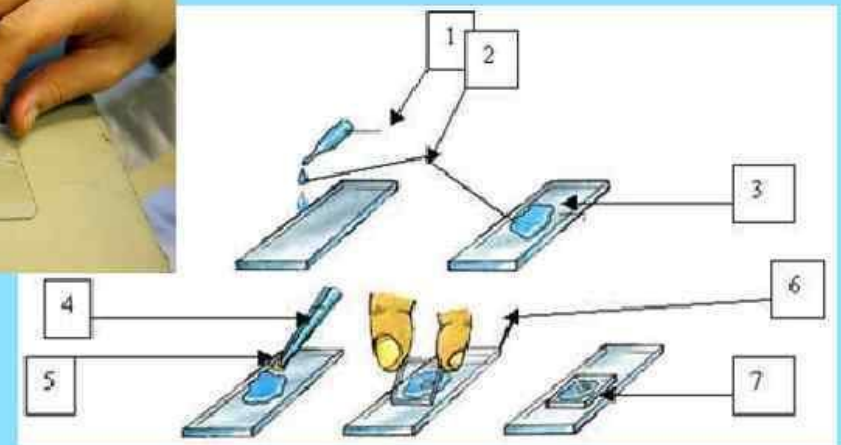
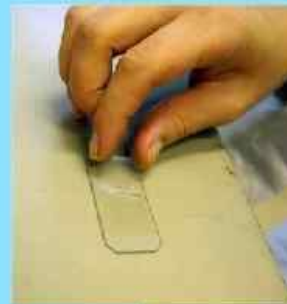
**изучение микроорганизмов путем их  
микроскопирования в живом или  
окрашенном состоянии**

# Изучение микроорганизмов путем их микроскопирования **В ЖИВОМ СОСТОЯНИИ** проводится:

Метод «висячей» капли



Метод «раздавленной» капли





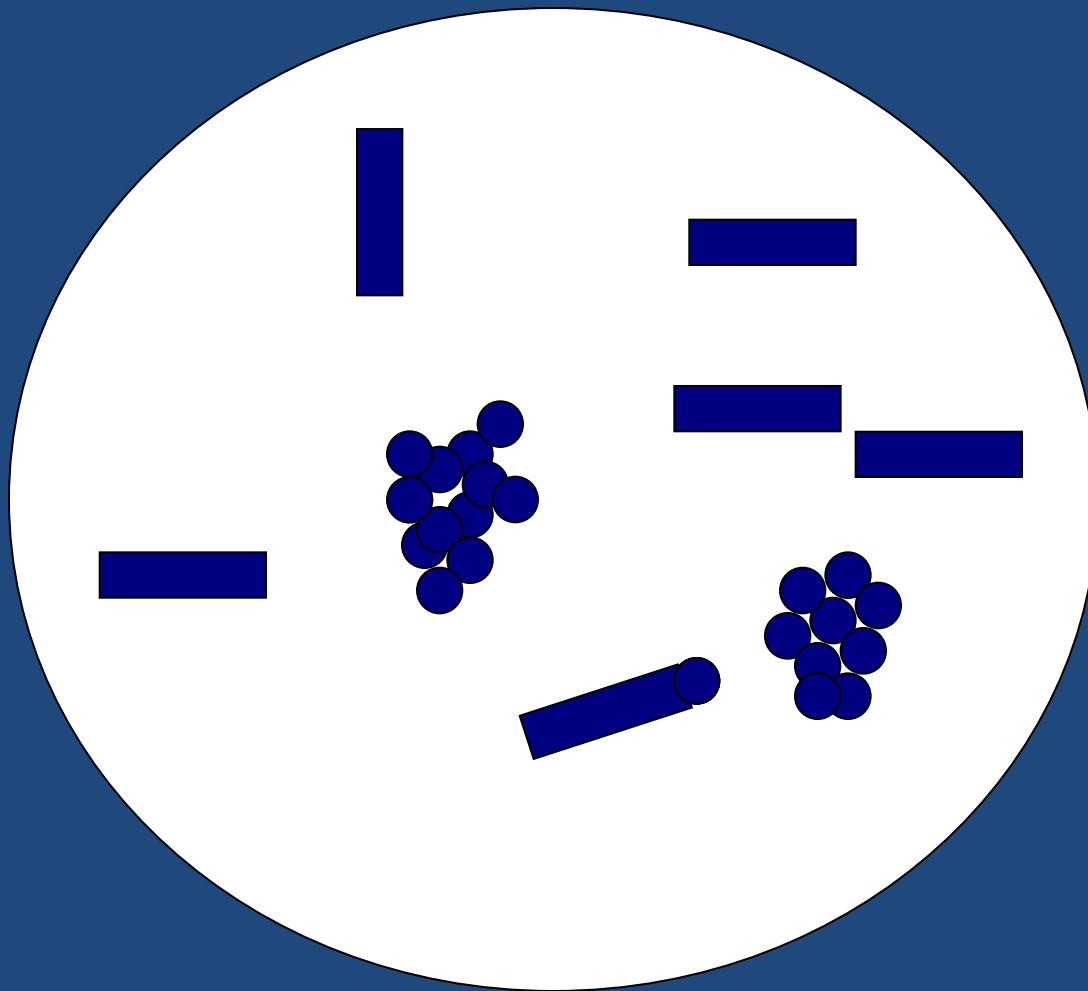
**ПРОСТЫЕ И СЛОЖНЫЕ  
МЕТОДЫ ОКРАСКИ  
МИКРООРГАНИЗМОВ**

# Окраска по Граму

1. На **фиксированный мазок** наносят карболово-спиртовый раствор генцианового фиолетового через полоску фильтровальной бумаги. Через 2 минуты ее снимают, а краситель сливают.
2. Наносят раствор Люголя на 1 минуту.
3. Обесцвечивают препарат этиловым спиртом в течение **30-40 секунд**.
4. **Промывают препарат водой.**
5. Докрашивают мазок водным раствором фуксина в течение 2 минут.
6. **Промывают препарат водой**, высушивают и микроскопируют.

# Окраска по Граму 1 и 2 этапы

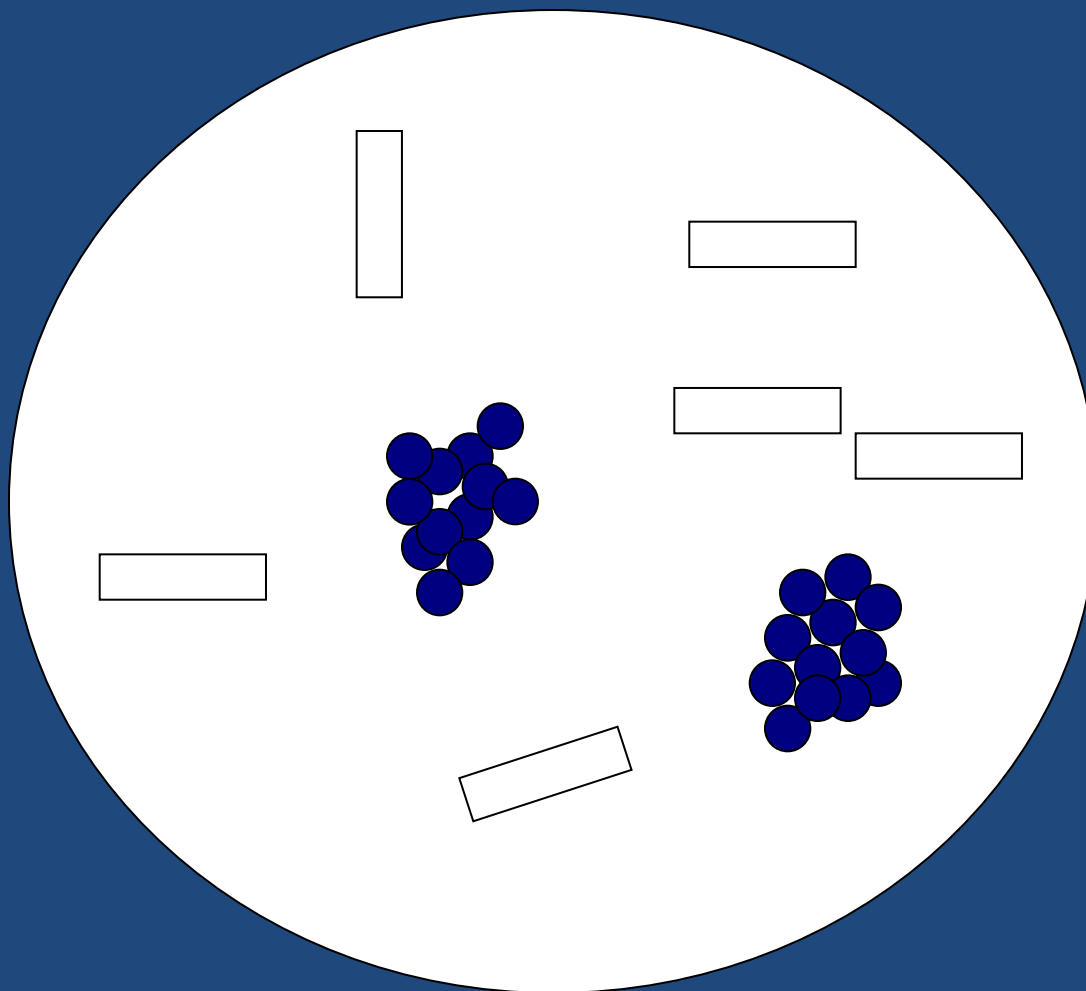
Карболово-спиртовой раствор генцианового фиолетового +  
раствор Люголя



# Окраска по Граму

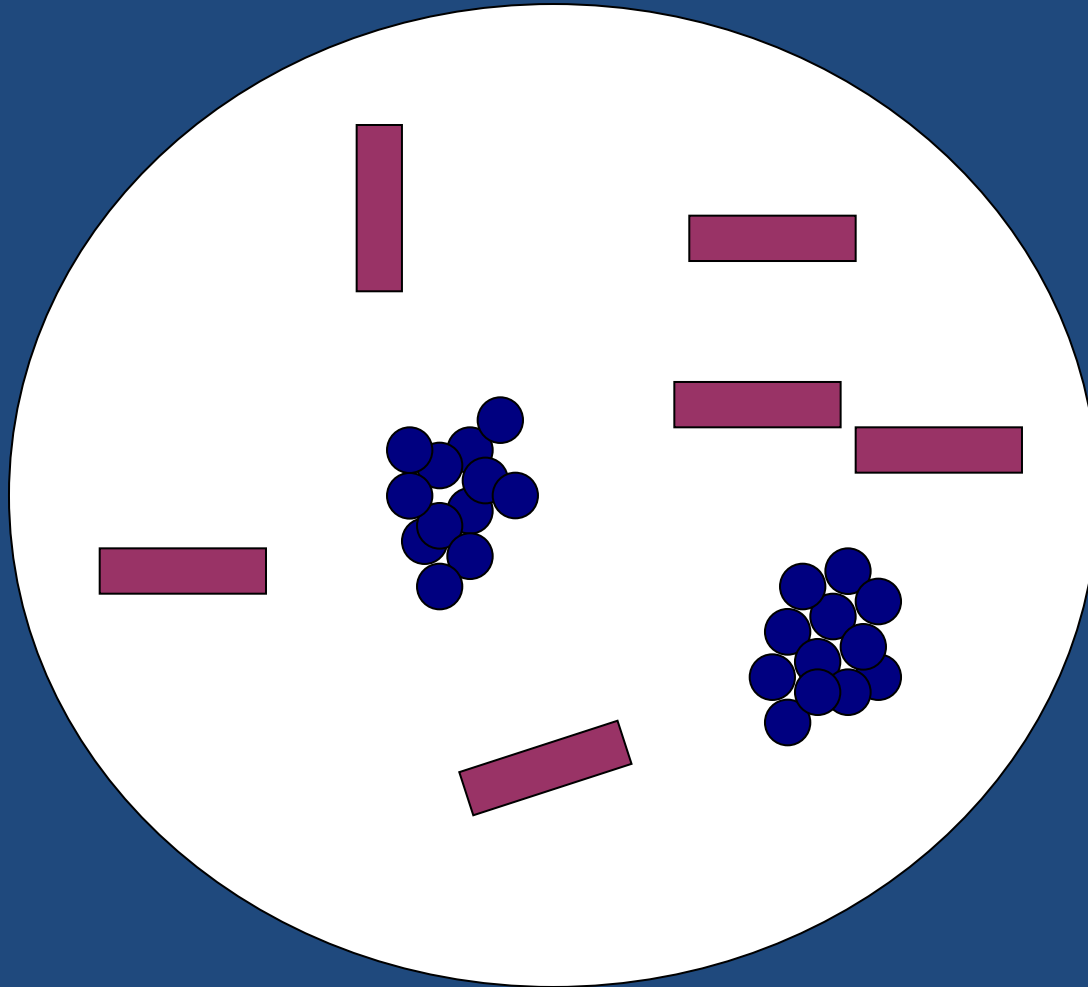
## 3 этап

Обесцвечивают препарат этиловым спиртом

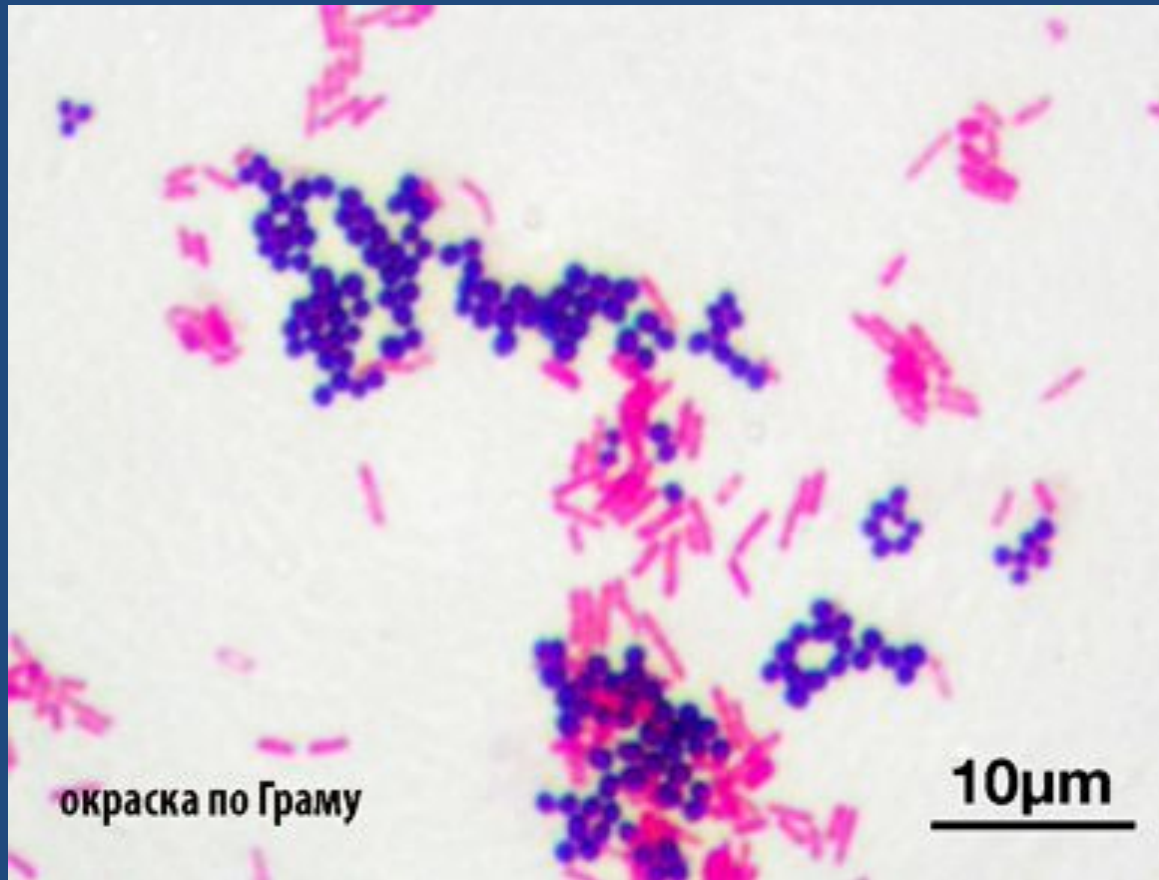


# Окраска по Граму 4 этап

Мазок докрашивают водным раствором фуксина



# Окраска по Граму



## Грамположительные бактерии:












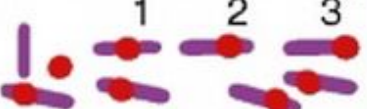


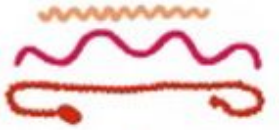





- кокки (за исключением р. *Neisseria*, р. *Veillonella* )
- **спорообразующие** палочки (р. *Bacillus*, р. *Clostridium* )
- р. *Corynebacterium*, р. *Mycobacterium*, р. *Listeria*

## Грамотрицательные бактерии:

- кокки - р. *Neisseria*, р. *Veillonella*
- палочковидные бактерии **не образующие спор**
- извитые формы (вибрионы, спираиллы, спирохеты).



Морфологические свойства и особенности окрашивания (по Граму) бактерий. Некоторые бактерии образуют споры, расположенные центрально (1), субтерминально (2) или терминально (3).

| Грамотрицательные бактерии —<br>красные<br>с тонкой клеточной стенкой  | Грамположительные бактерии —<br>сине-фиолетовые<br>с толстой клеточной стенкой                       |
|--|--|
| Гонококки                                    | Стафилококки      |
| Менингококки                                 | Стрептококки      |
| Вейлонеллы                                   | Пневмококки       |
| Палочки<br>( <i>Escherichia coli</i> и др.)  | Палочки           |
| Вибрионы                                     | Бациллы           |
| Кампилобактерии<br>Хеликобактерии            | Клостридии        |
| Спириллы                                     | Коринебактерии   |
| Спирохеты                                  | Микобактерии    |
| Риккетсии                                  | Бифидобактерии  |
| Хламидии                                   | Актиномицеты    |

# Окраска по Бурри-Гинсу

1. На предметное стекло наносят каплю туши, а рядом – каплю исследуемого материала. Обе капли тщательно перемешивают и с помощью шлифованного стекла готовят мазок.
2. Мазок высушивают на воздухе и фиксируют на пламени горелки.
3. Мазок окрашивают фуксином. При этом бактерии окрашиваются в красный цвет, капсулы остаются неокрашенными и выделяются на темном фоне препарата.

# Окраска по Бурри-Гинсу

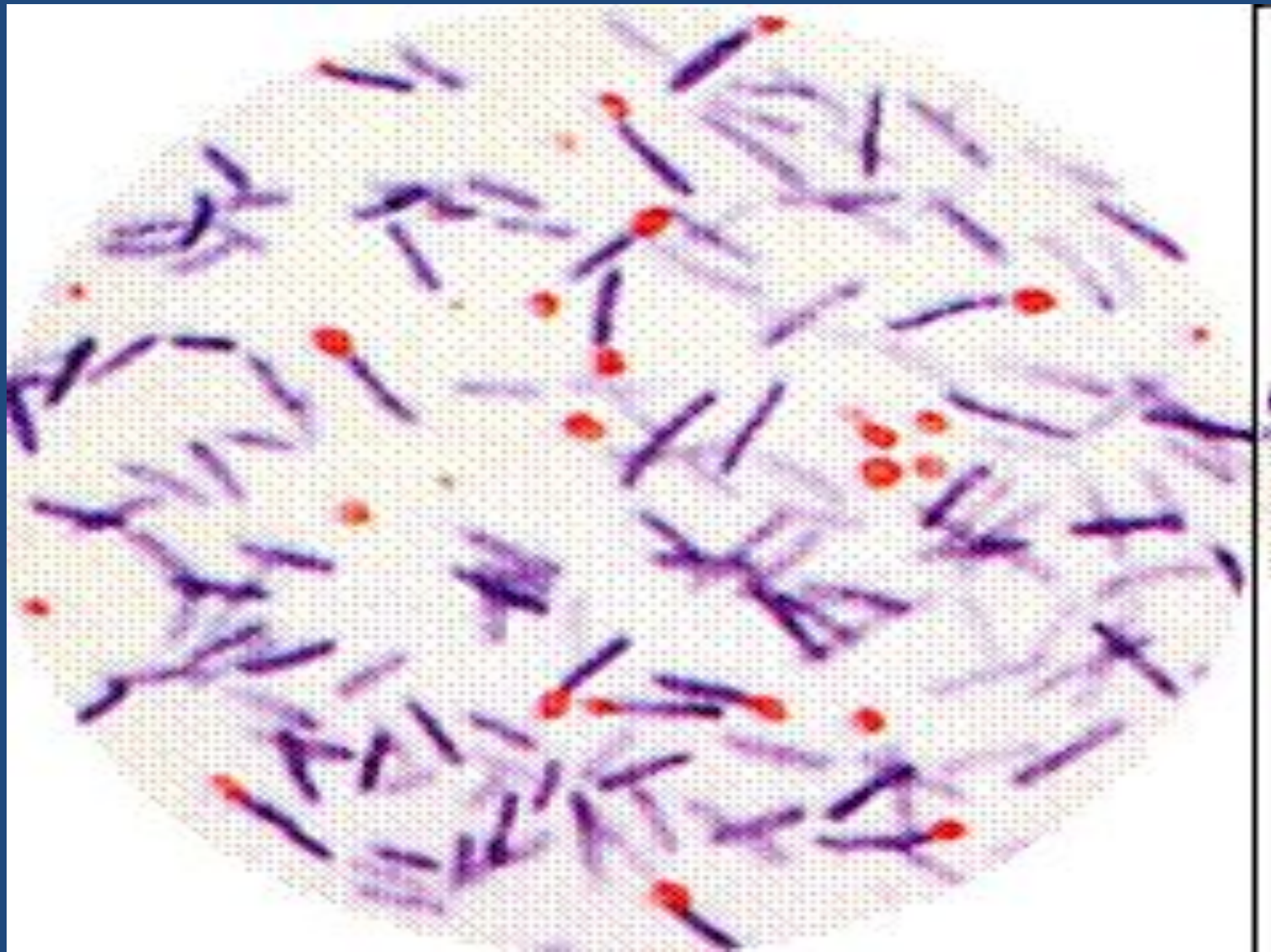


# Окраска по Нейссеру

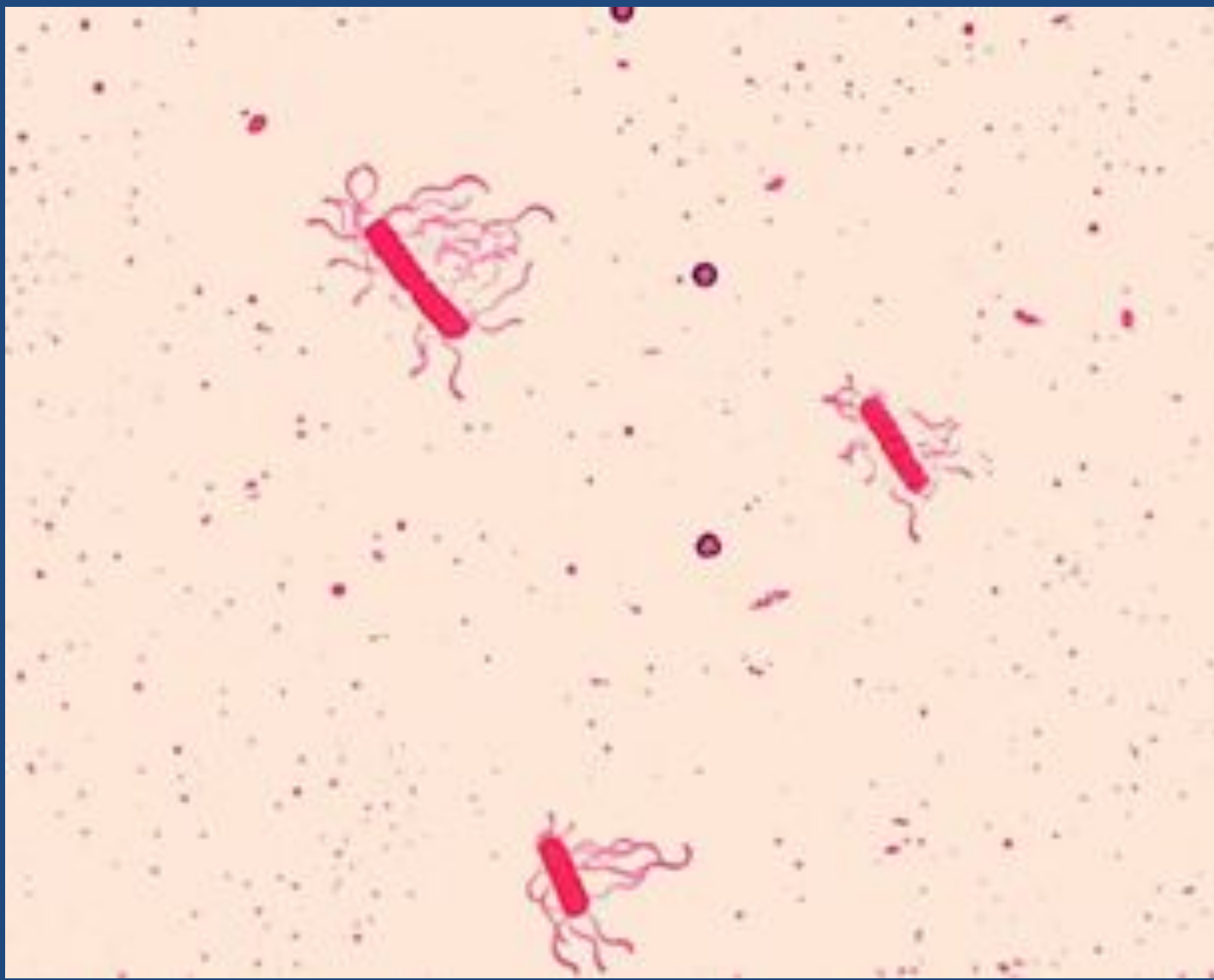




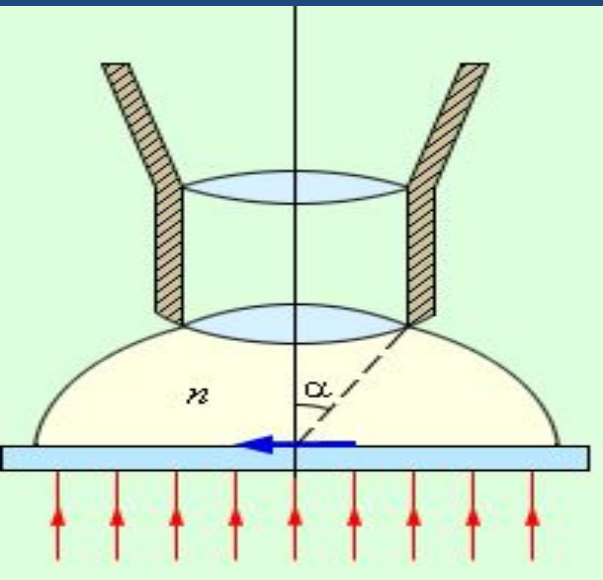
# Окраска по Ожешки



# Окраска по Леффлеру



# Методы определения вида микроорганизмов



Световая микроскопия с иммерсионной системой;

Увеличение – 900 раз

Разрешающая способность – 0,2 мкм



# Методы определения вида микроорганизмов



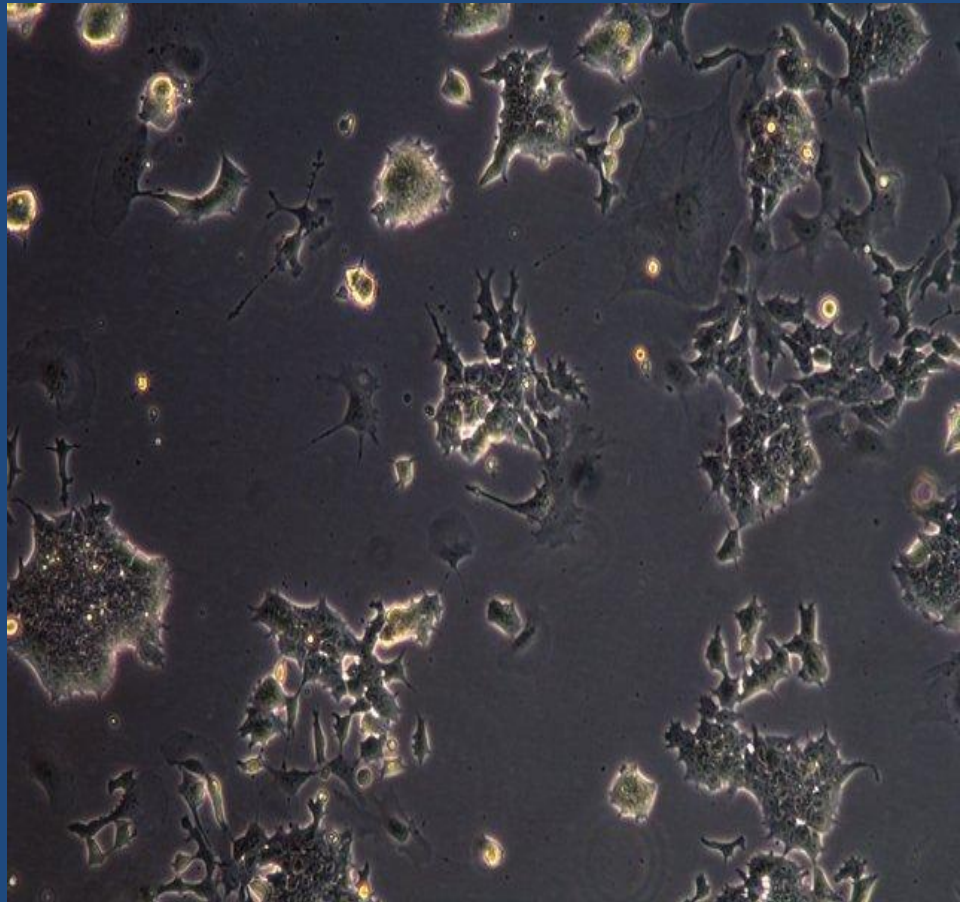
**Темнопольная  
микроскопия** –  
источник света  
располагается сбоку,  
сам рабочий столик  
не освещается.

*Treponema pallidum*

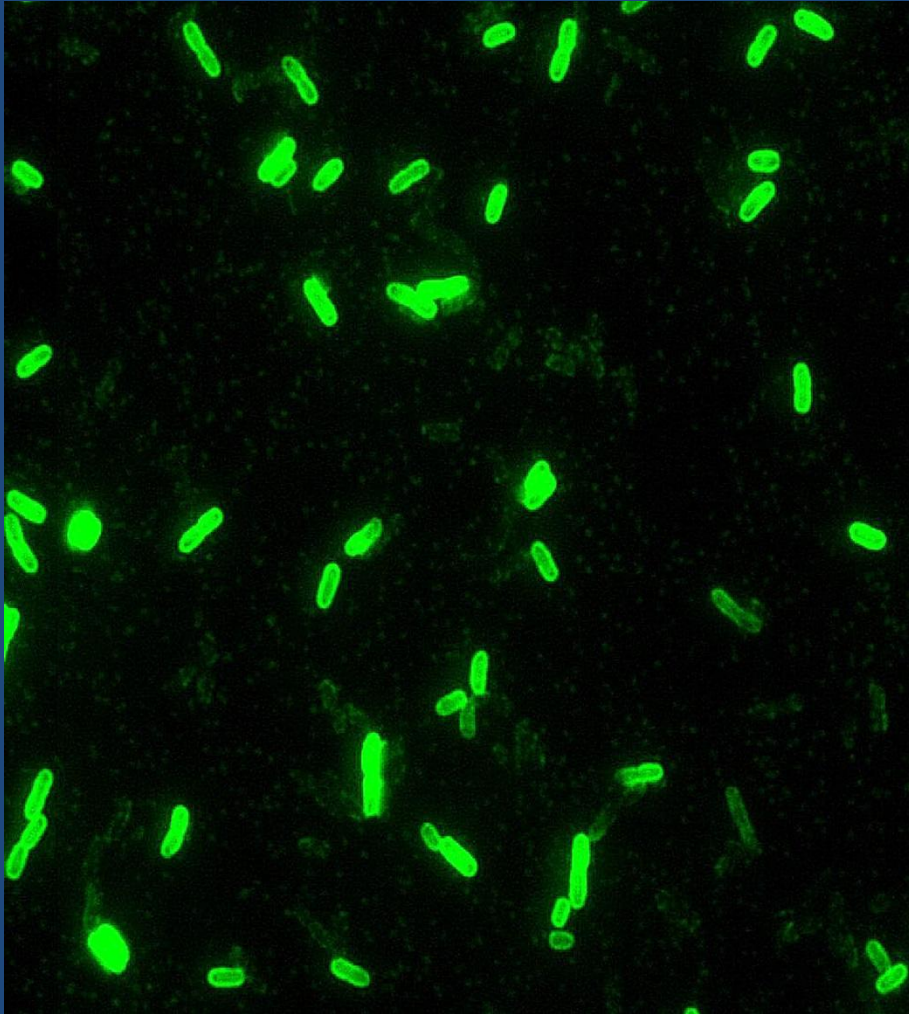
# Методы определения вида микроорганизмов

## Фазово-контрастная микроскопия

На световой поток одеваются в специальный контур, который разбивает световой луч на много лучиков в соответствии с длиной волны.



# Методы определения вида микроорганизмов



**Люминесцентная микроскопия** – основана на способности некоторых красителей светиться в ультрафиолетовых лучах. Используется ультрафиолетовый излучатель.



# Методы определения вида микроорганизмов

## Электронная микроскопия

Увеличение –  $10^6$  раз

Разрешающая способность – 0,1 нм  
(1 нм –  $10^{-9}$  м)

