



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

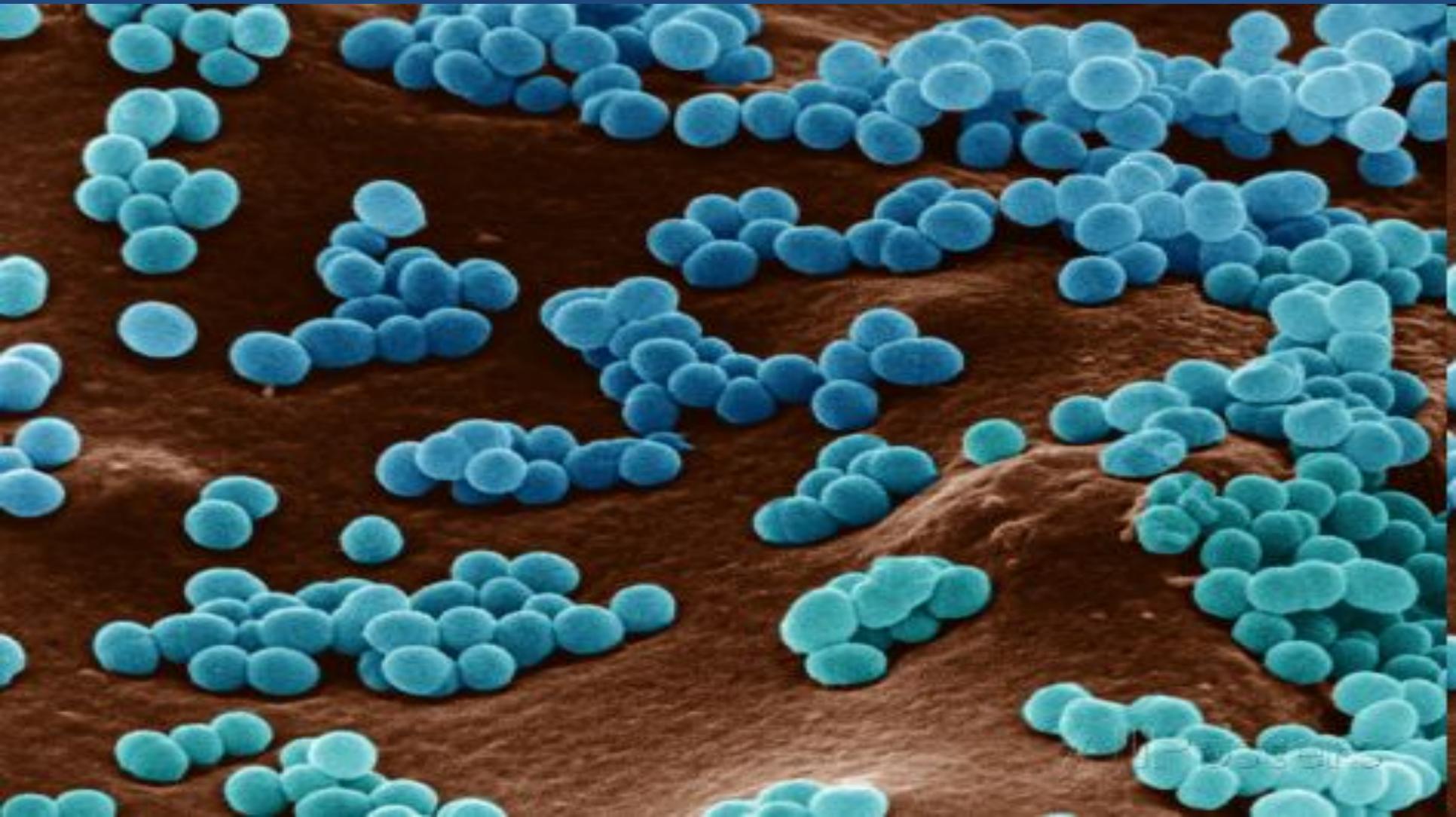
По форме клеток бактерии подразделяются на **3 основные группы:**

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

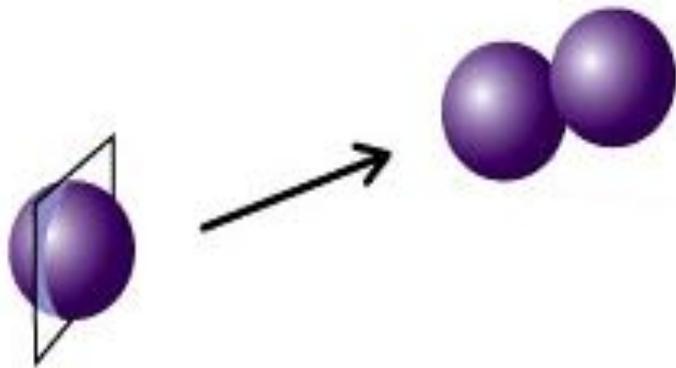
Кокки - в зависимости от взаимного расположения клеток после деления различают следующие виды кокков:

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

МИКРОКОККИ



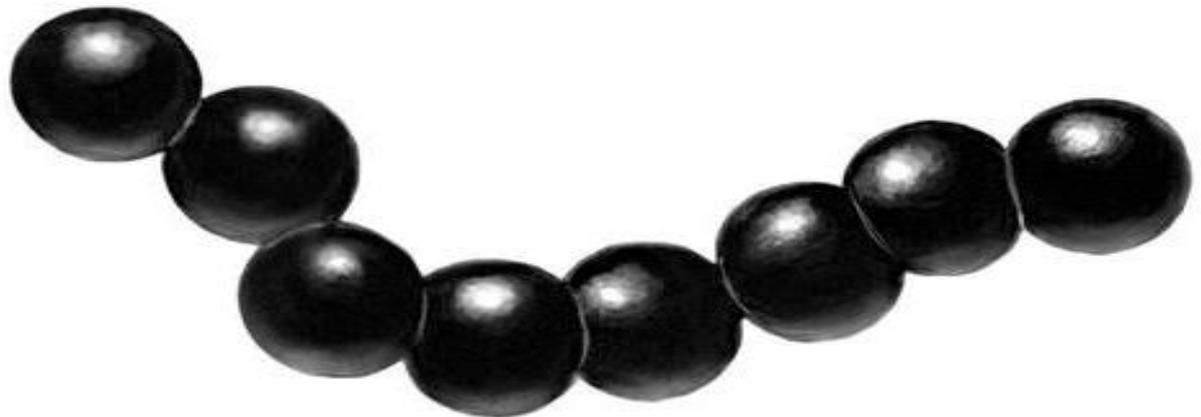
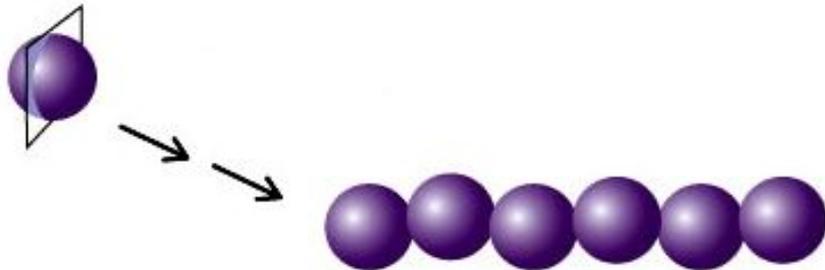
ДИПЛОКОККИ



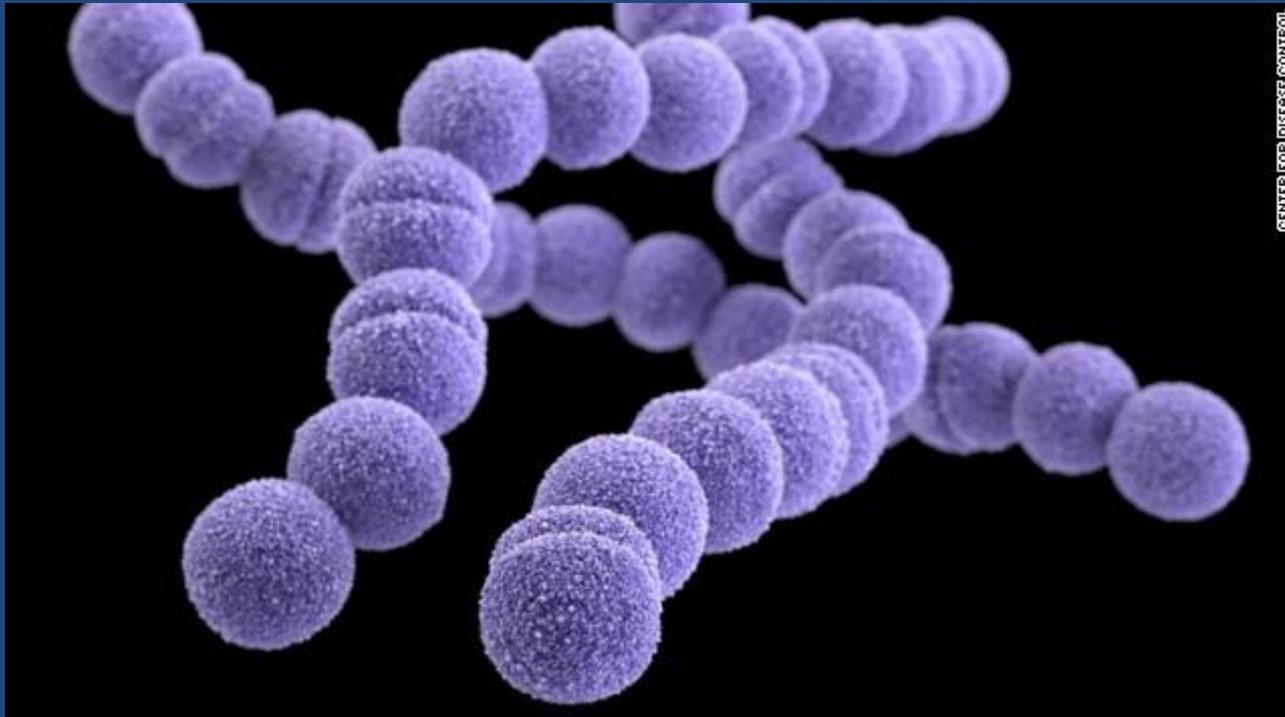
Neisseria meningitidis



СТРЕПТОКОККИ

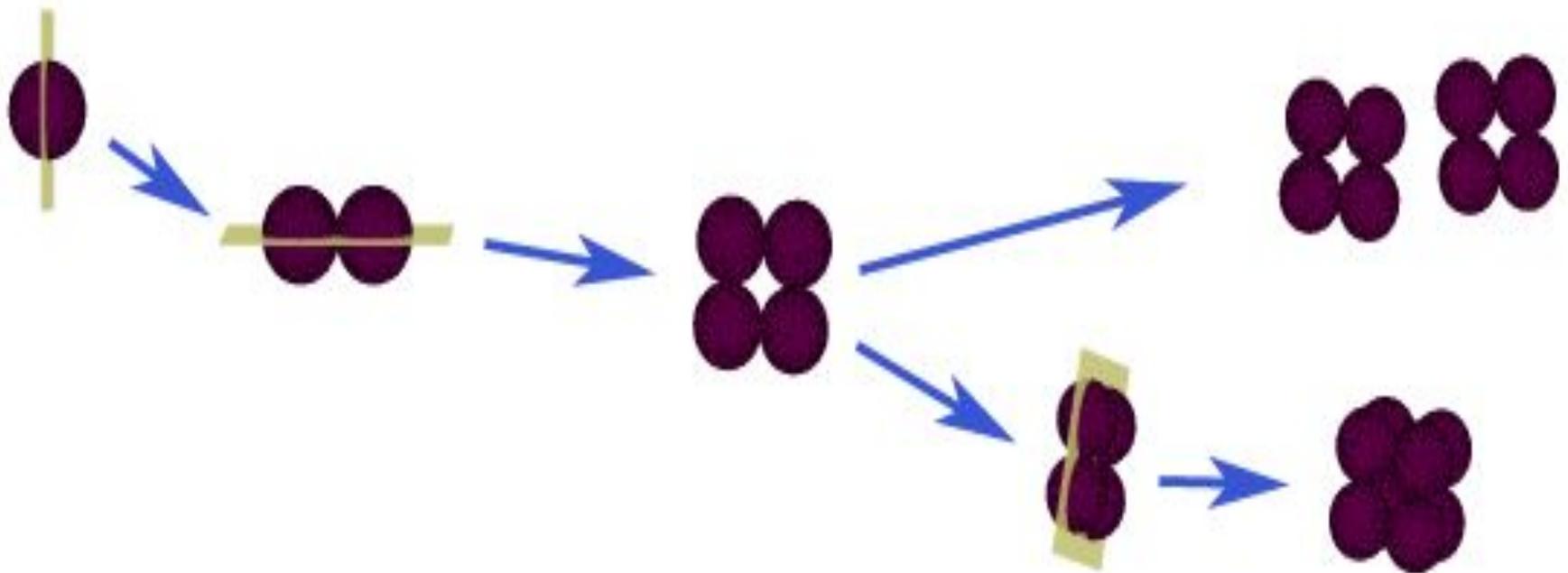


СТРЕПТОКОККИ

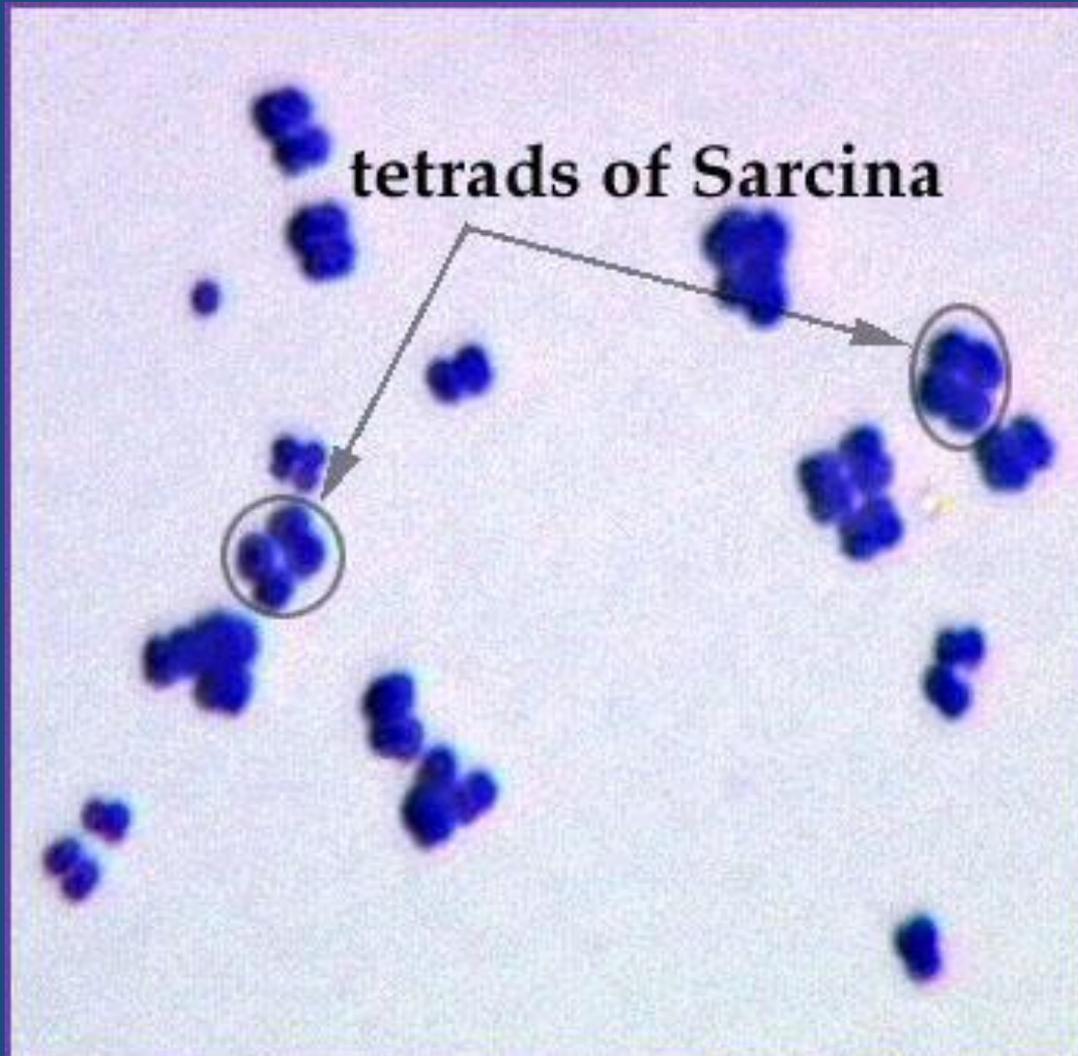


Streptococcus pyogenes

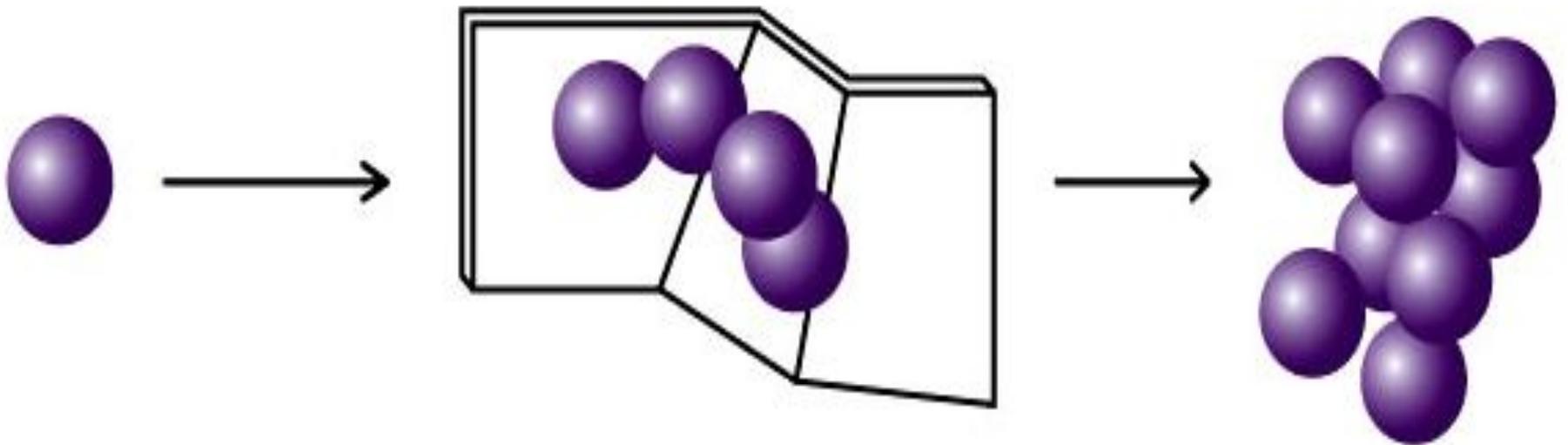
Тетракоки, сарцины



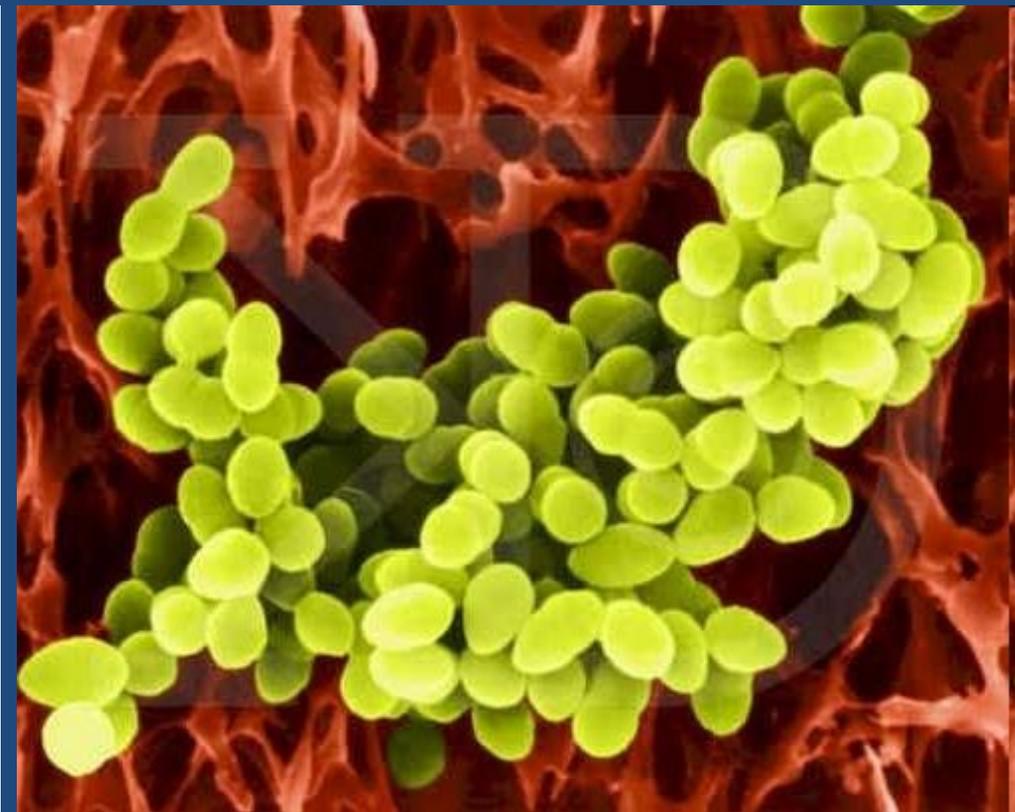
Тетракокке, сарцины



стафилококки



стафилококки



Staphylococcus aureus

Палочковидные бактерии

Палочковидные бактерии

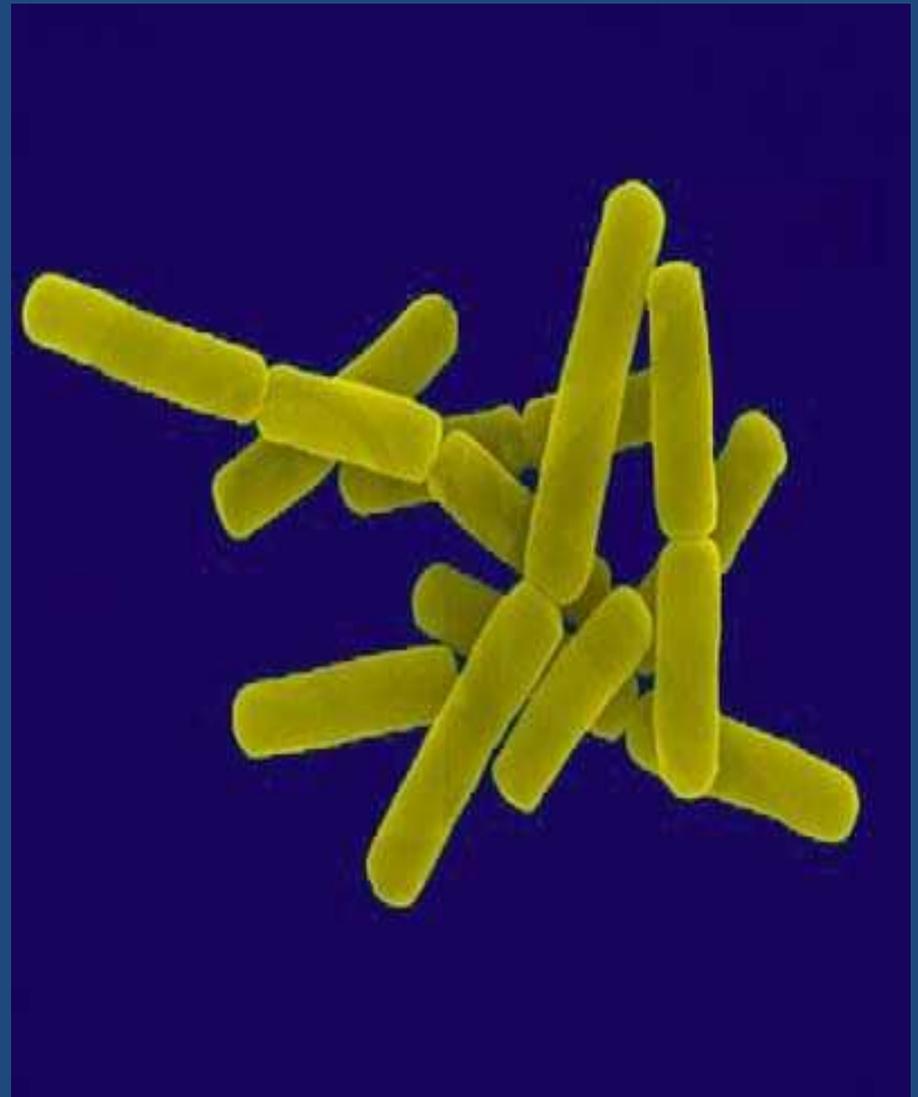
подразделяются на 2 группы:

- не образующие спор палочки;
- образующие споры палочки.

Clostridium

и

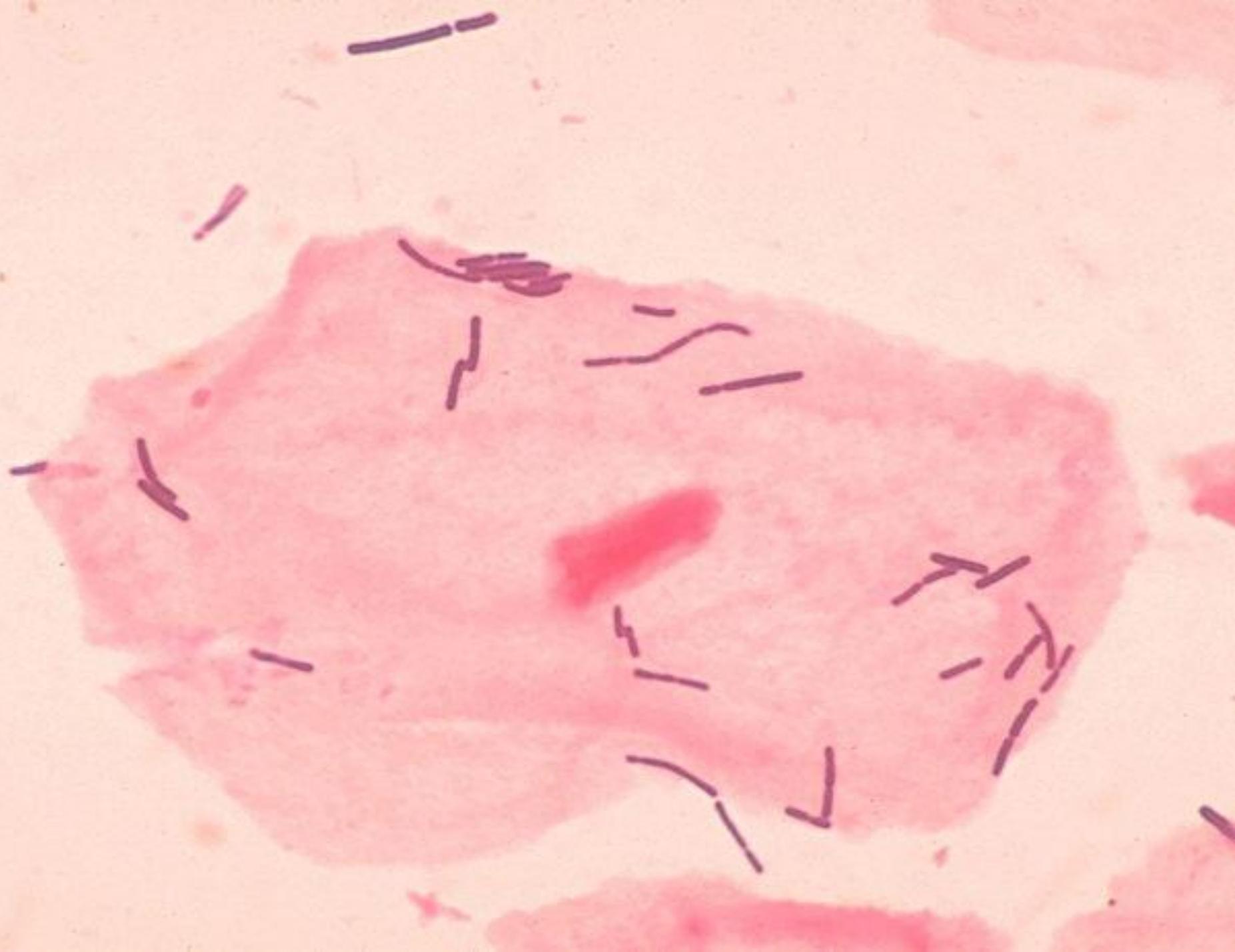
Bacillus



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:

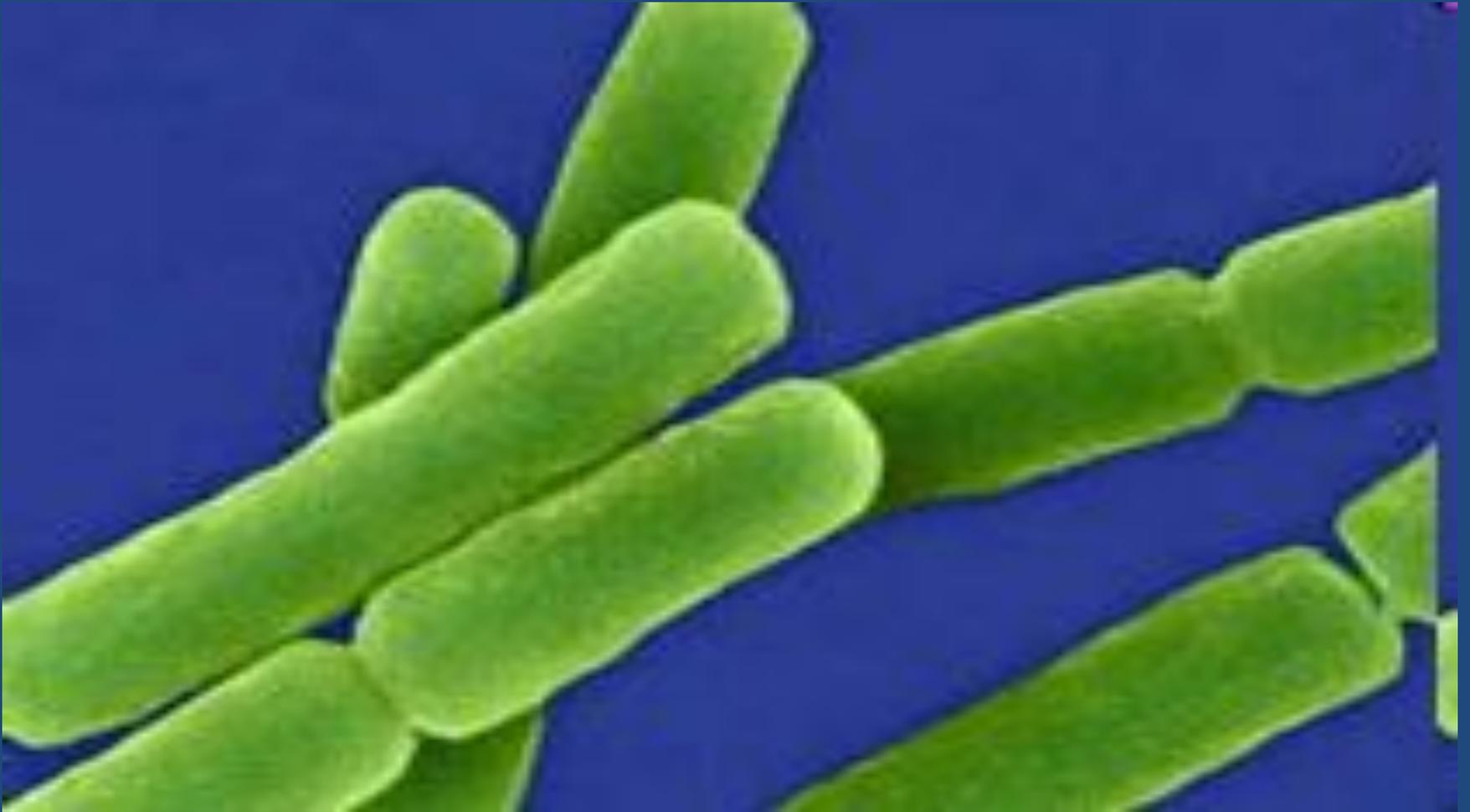
- закругленные;
- обрубленные;
- утолщенные;
- расщепленные.

Escherichia coli

Т. Эшерих (1885)



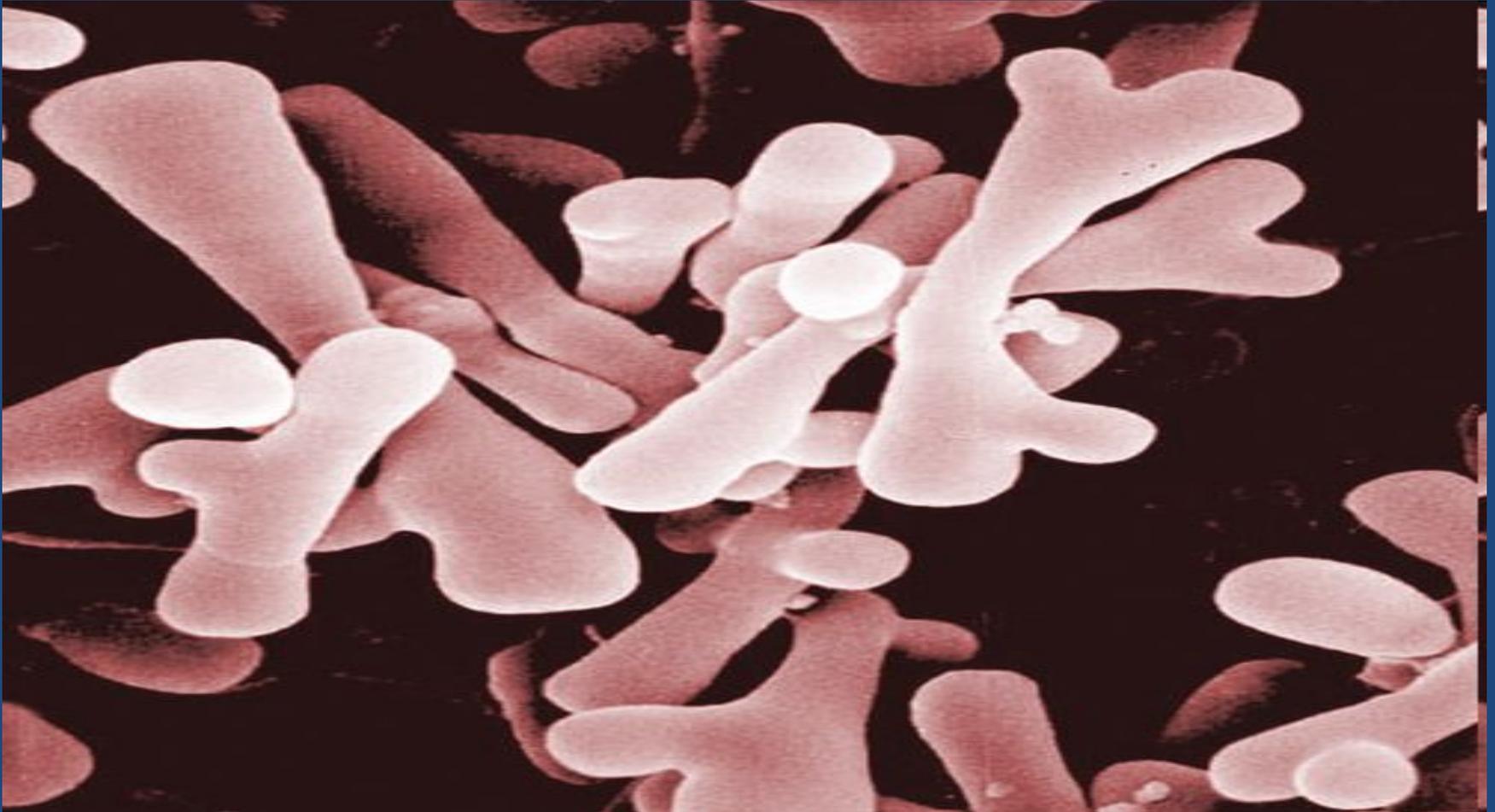
Bacillus anthracis



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

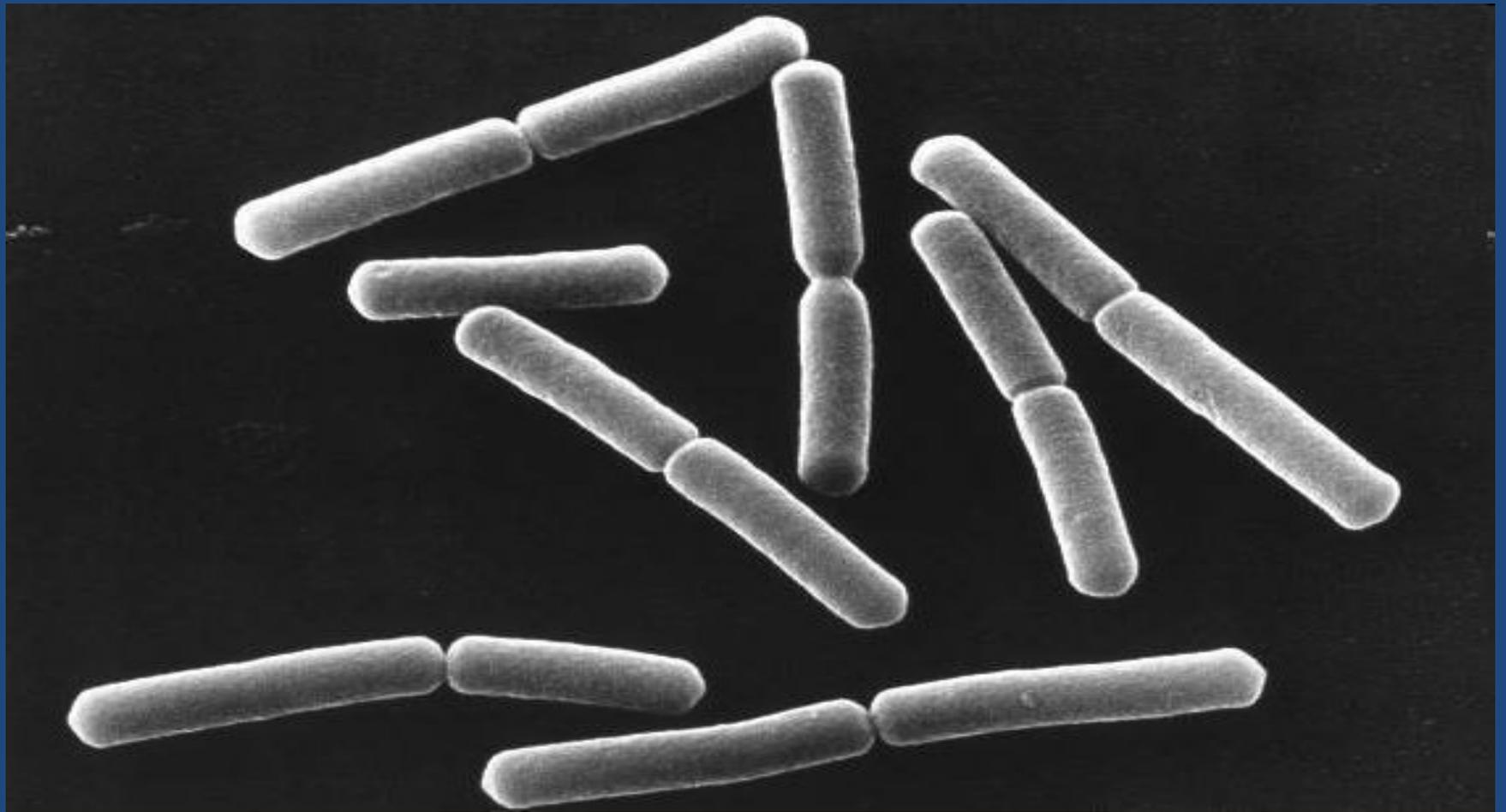


Палочковидные бактерии

По взаимному расположению клеток:

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

диплобактерии



Bacillus anthracis

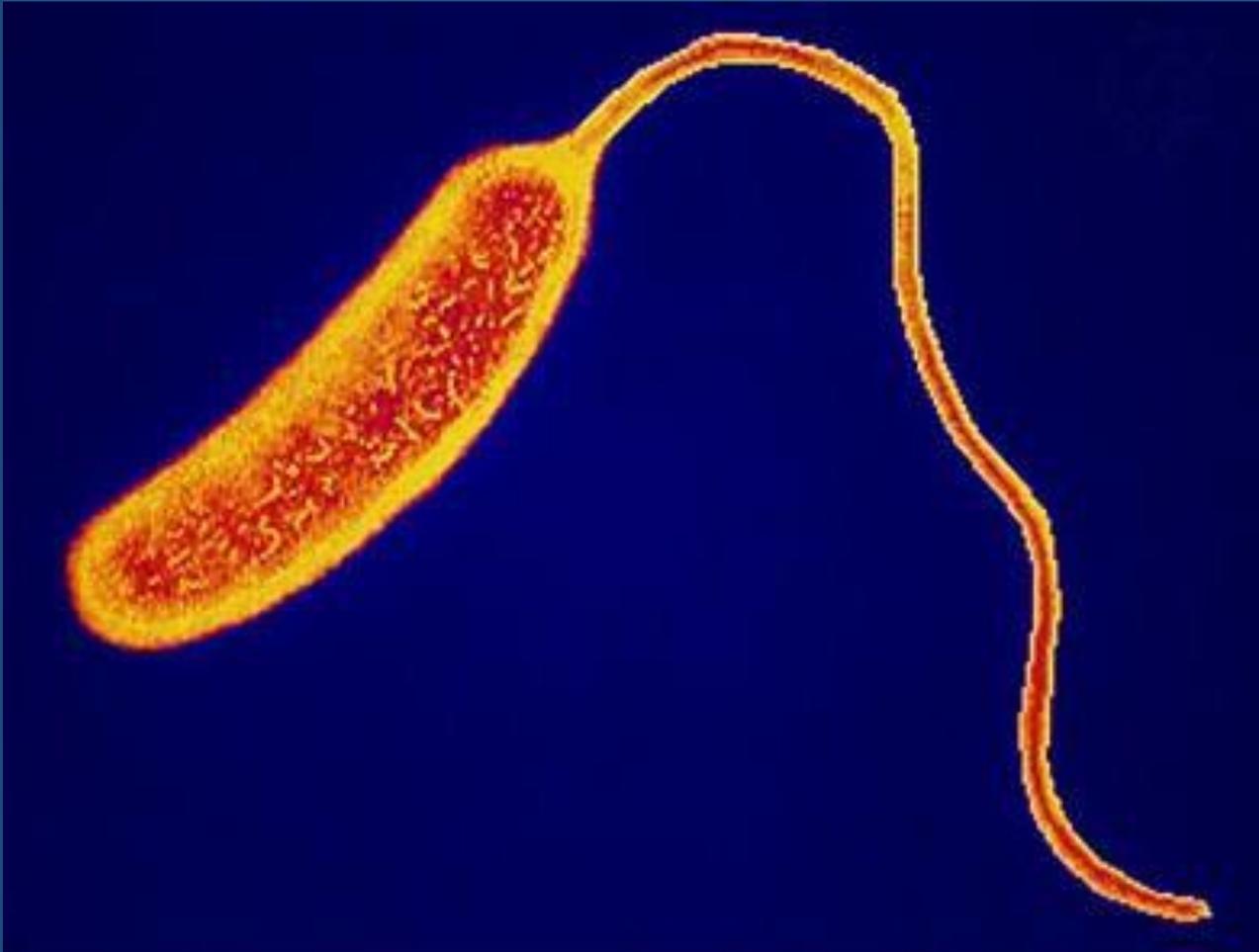


Corynebacterium diphtheriae



Изогнутые и извитые бактерии

Изогнутые



Холерный вибрион *Vibrio cholerae*

Извитые бактерии

- спираиллы

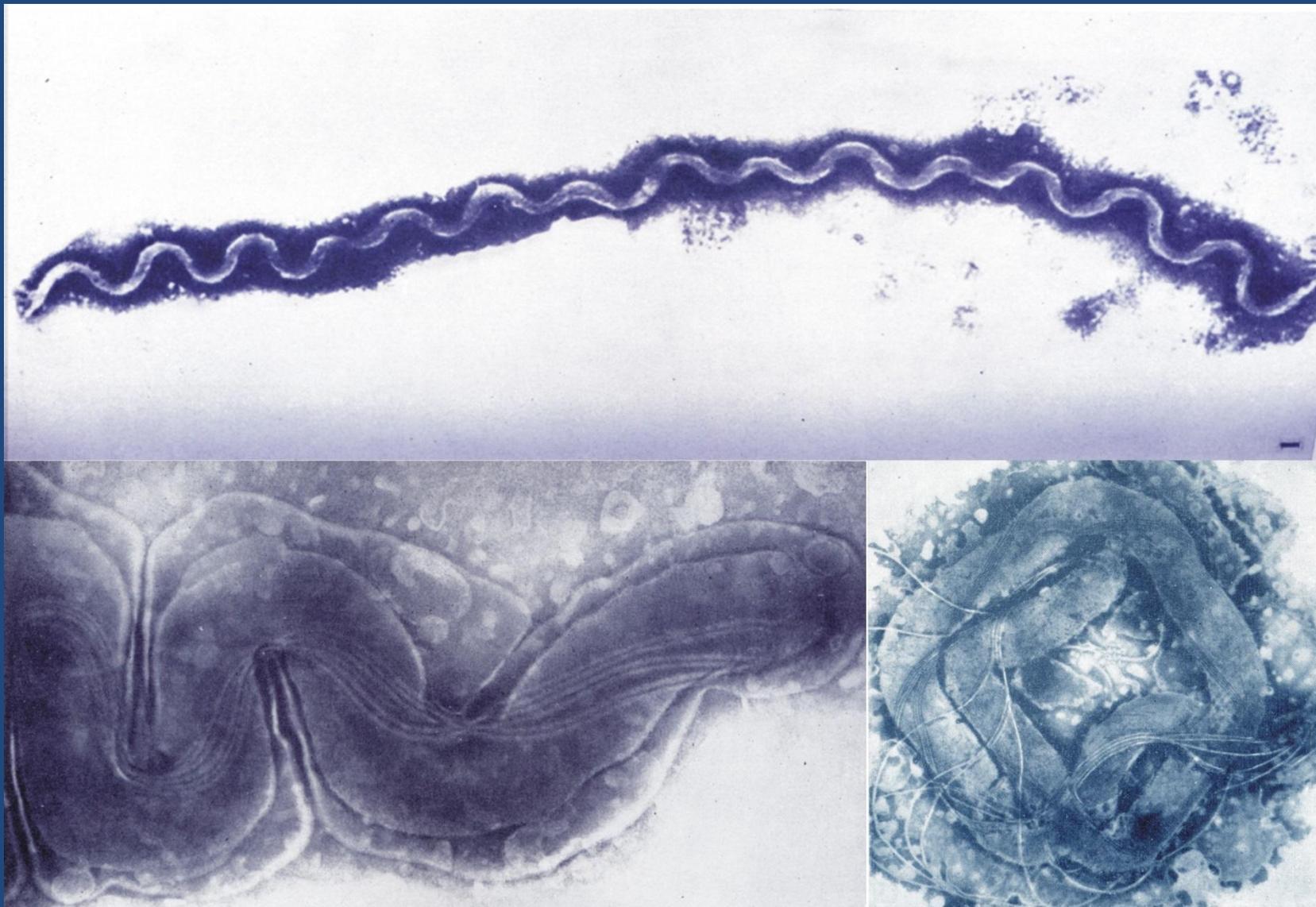
- спирохеты

Спирохеты - тонкие подвижные
извитые микроорганизмы.

В эту группу входят
представители трех родов:

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

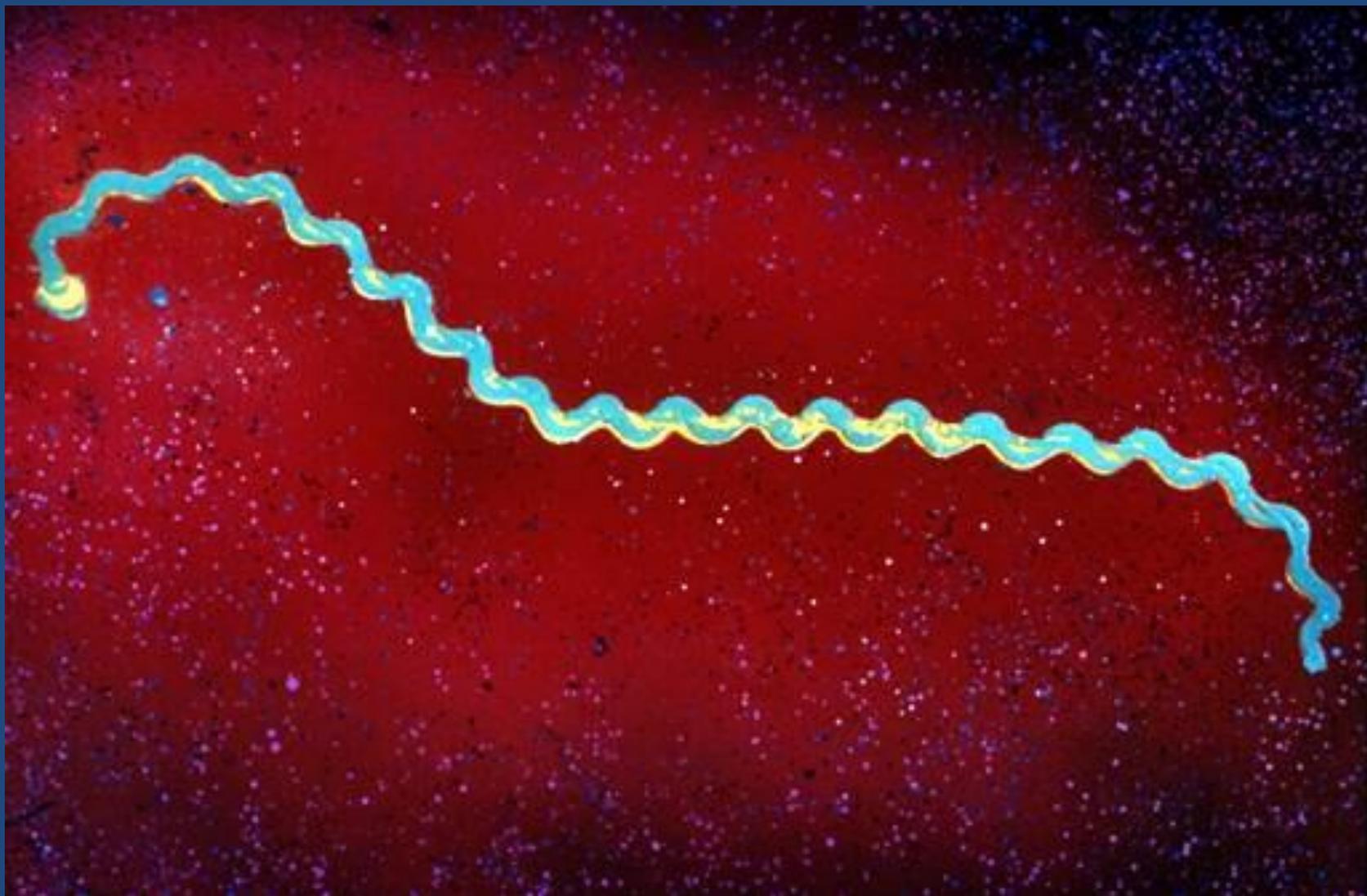
Трепоне́мы



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

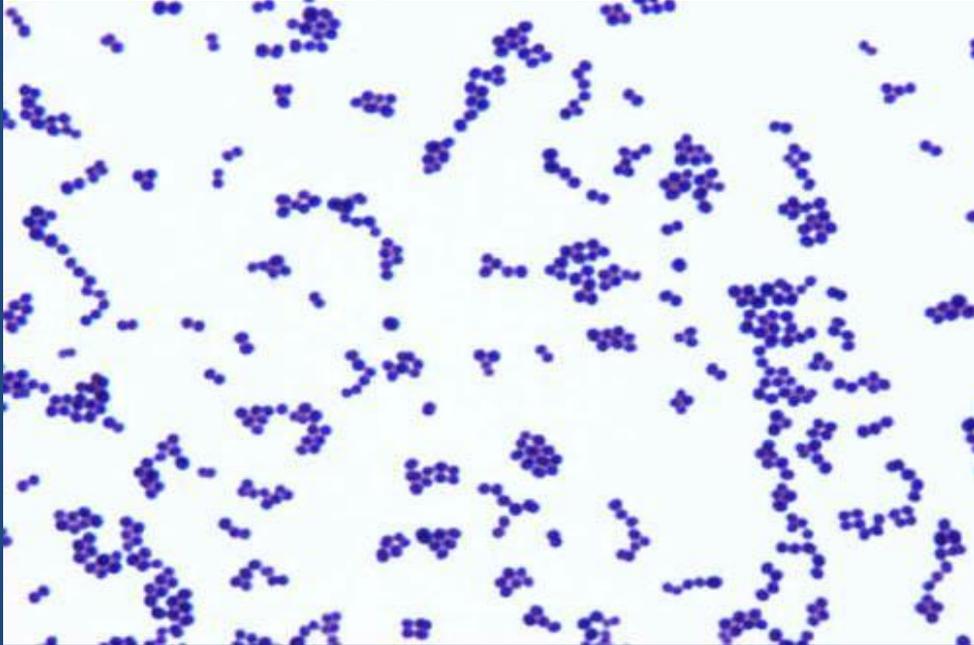
Грамм-положительными (Грамм+)

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

Грамм-отрицательными (Грамм -)

Грам

+



Staphylococcus

Грам

-



Escherichia

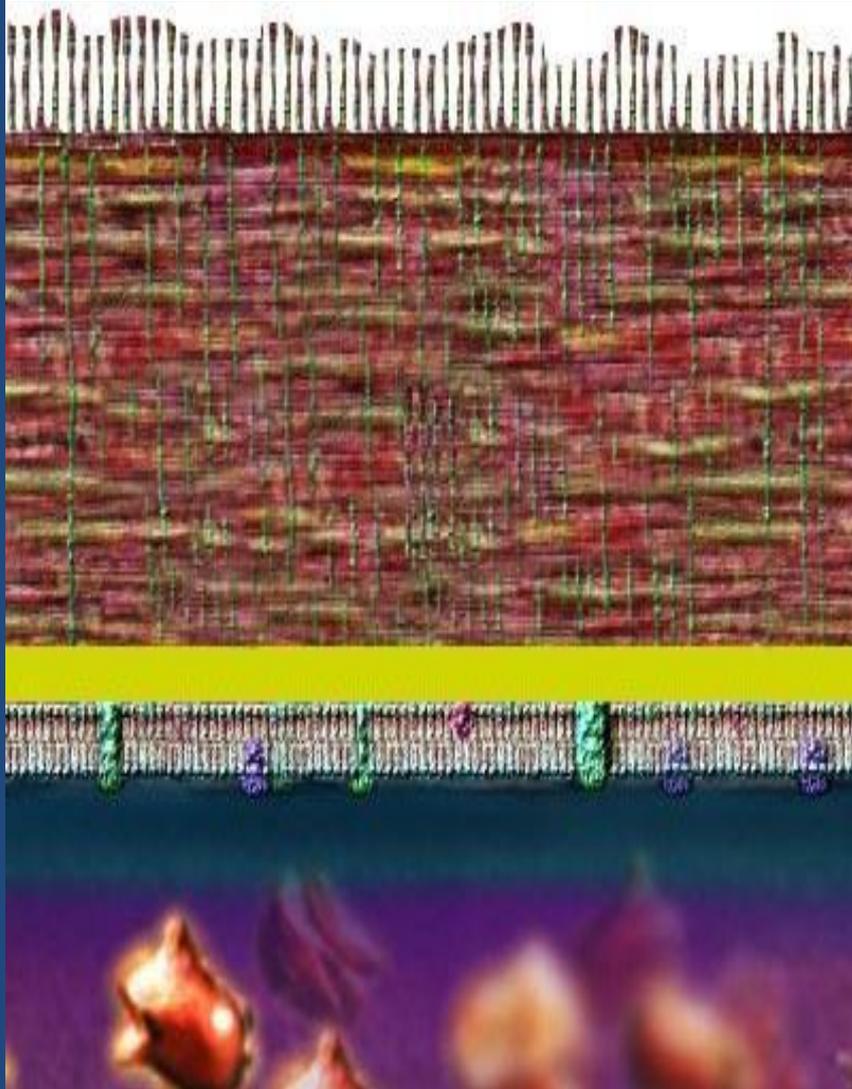
Клеточная стенка грамположительных бактерий

- 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 **мурейновый 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.**

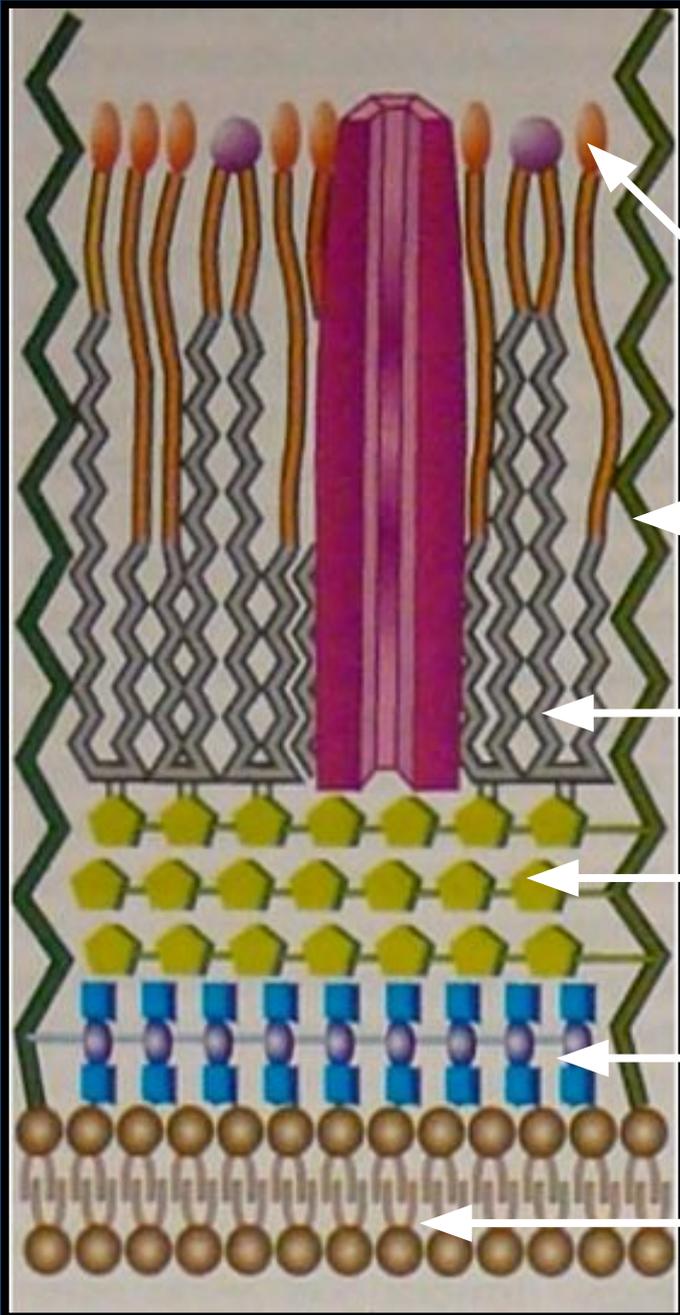
Клеточная стенка кислотоустойчивых бактерий

- 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

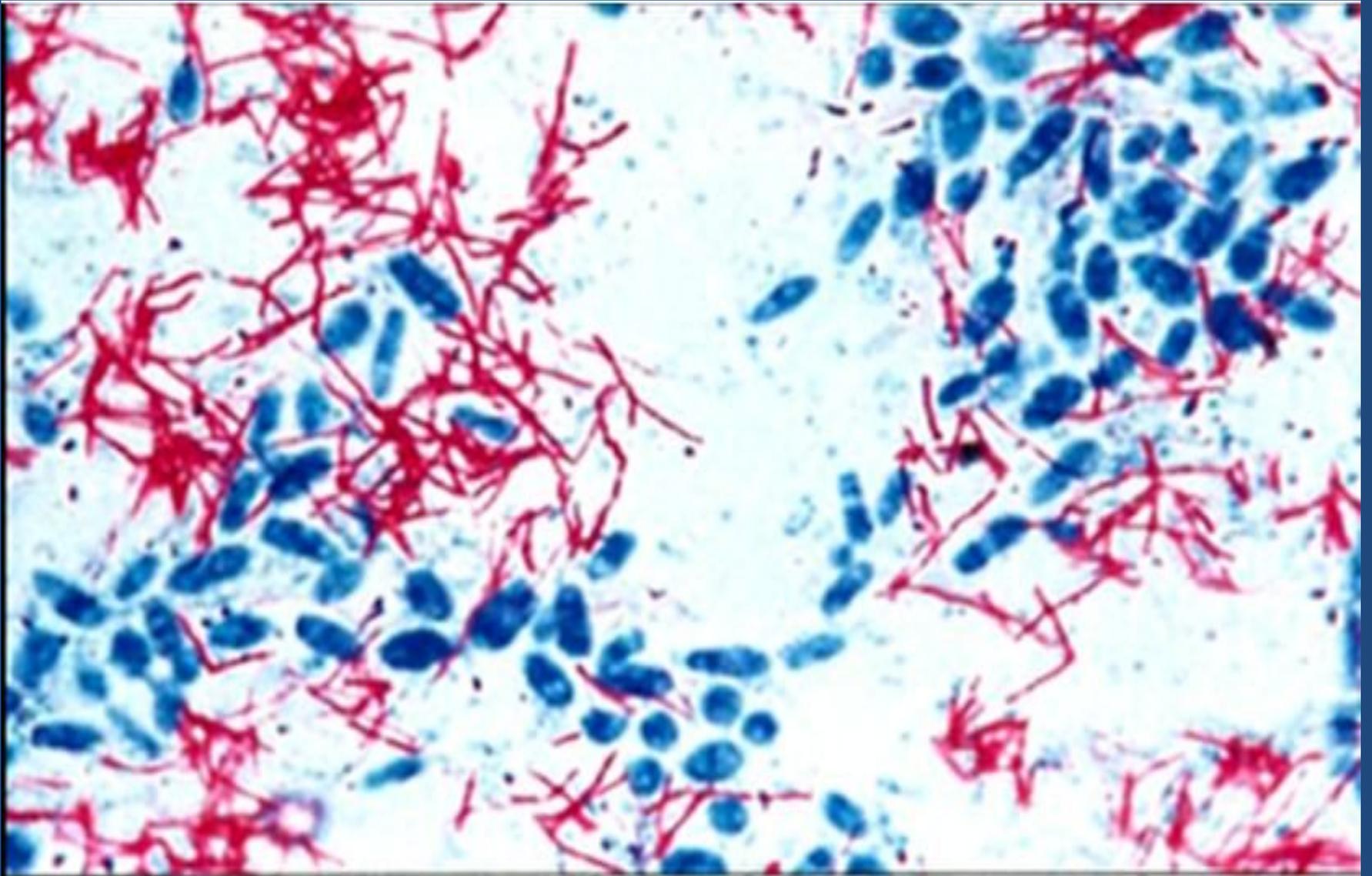
Пептидогликан

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



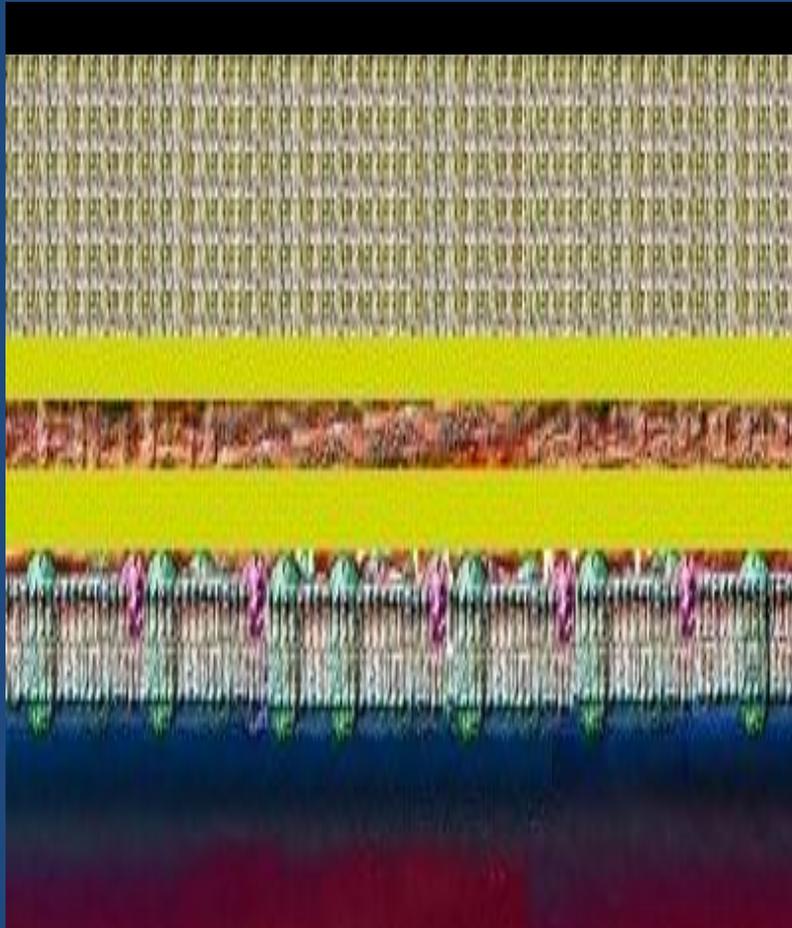
Клеточная стенка грамотрицательных бактерий

- 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

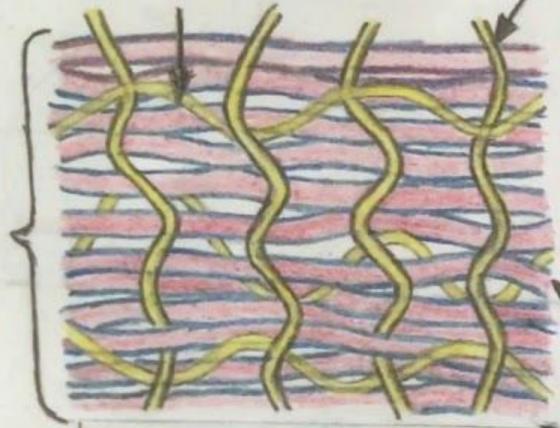
Клеточная
мембрана

Цитоплазм
а

клеточная стенка

Тейхоевая кислота

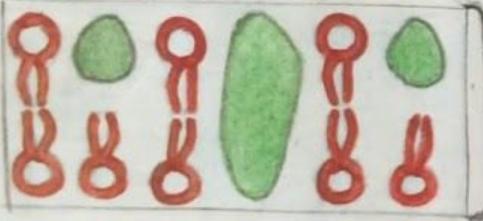
Липотейхоевая кислота



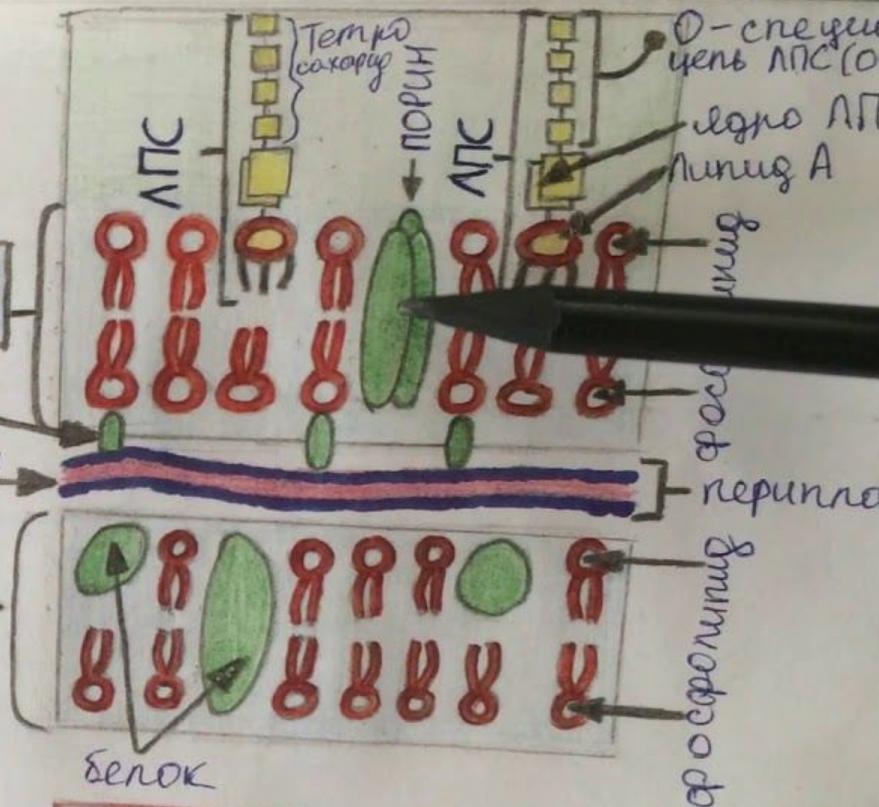
наружная мембрана

Липопротеин
Пептидогликан

цитоплазматическая мембрана



ГРАМ+



ГРАМ-

3.5 Схема строения оболочек грамположительных и грамотрицательных бактерий

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

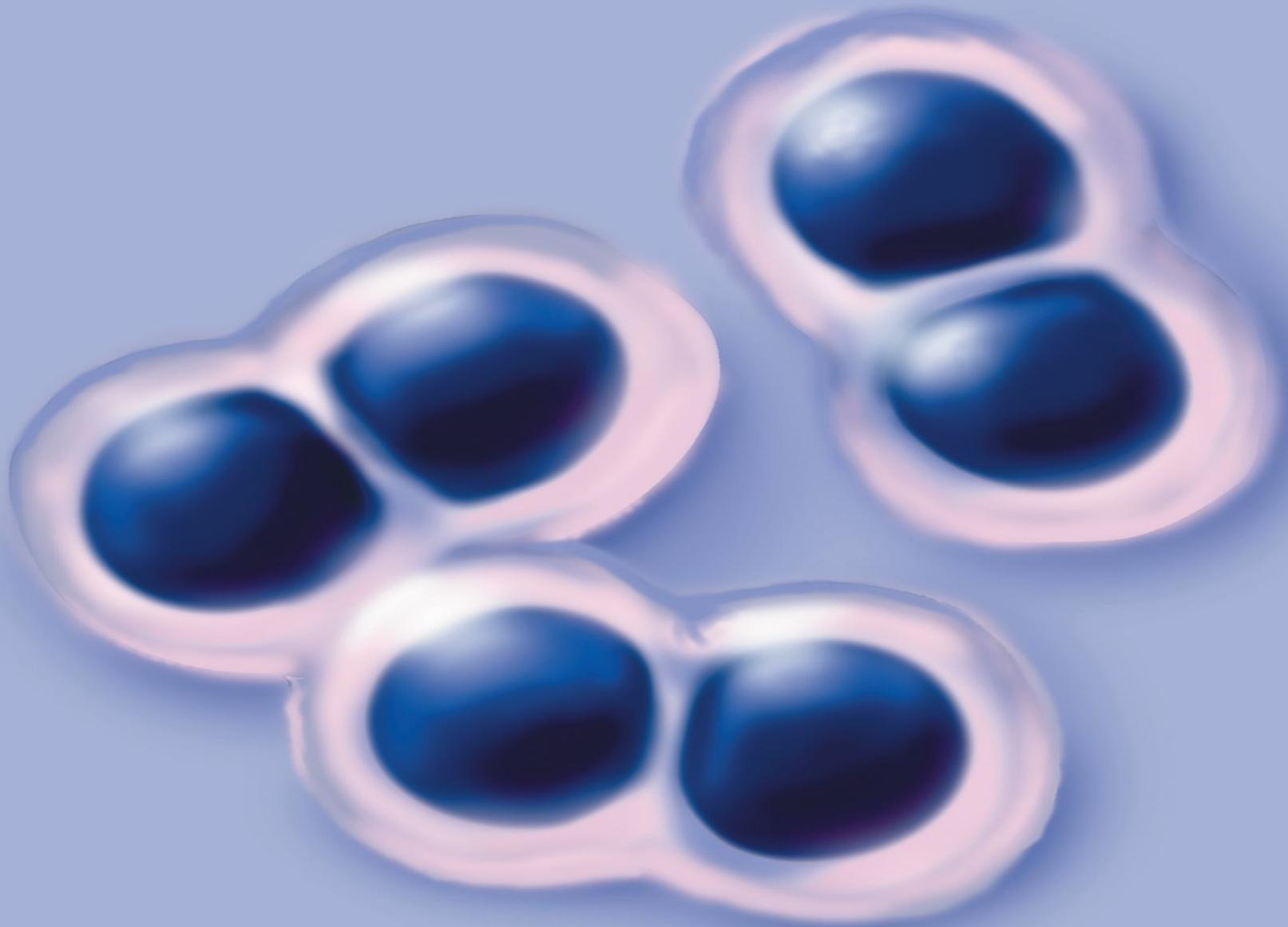
- Капсула
- Пили
- Жгутики

Капсула

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

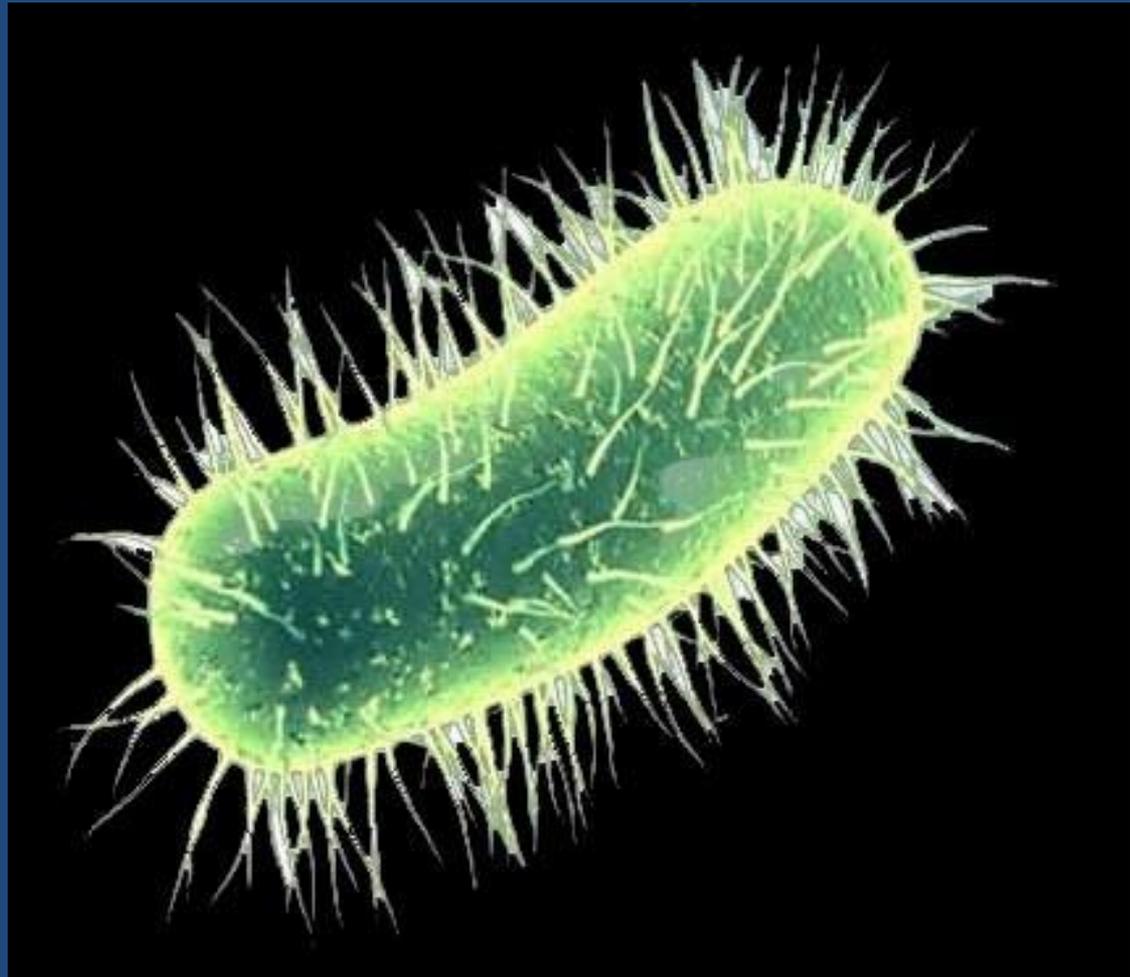
Макрокапсула различима при световой микроскопии.

Микрокапсула – только при электронной микроскопии.

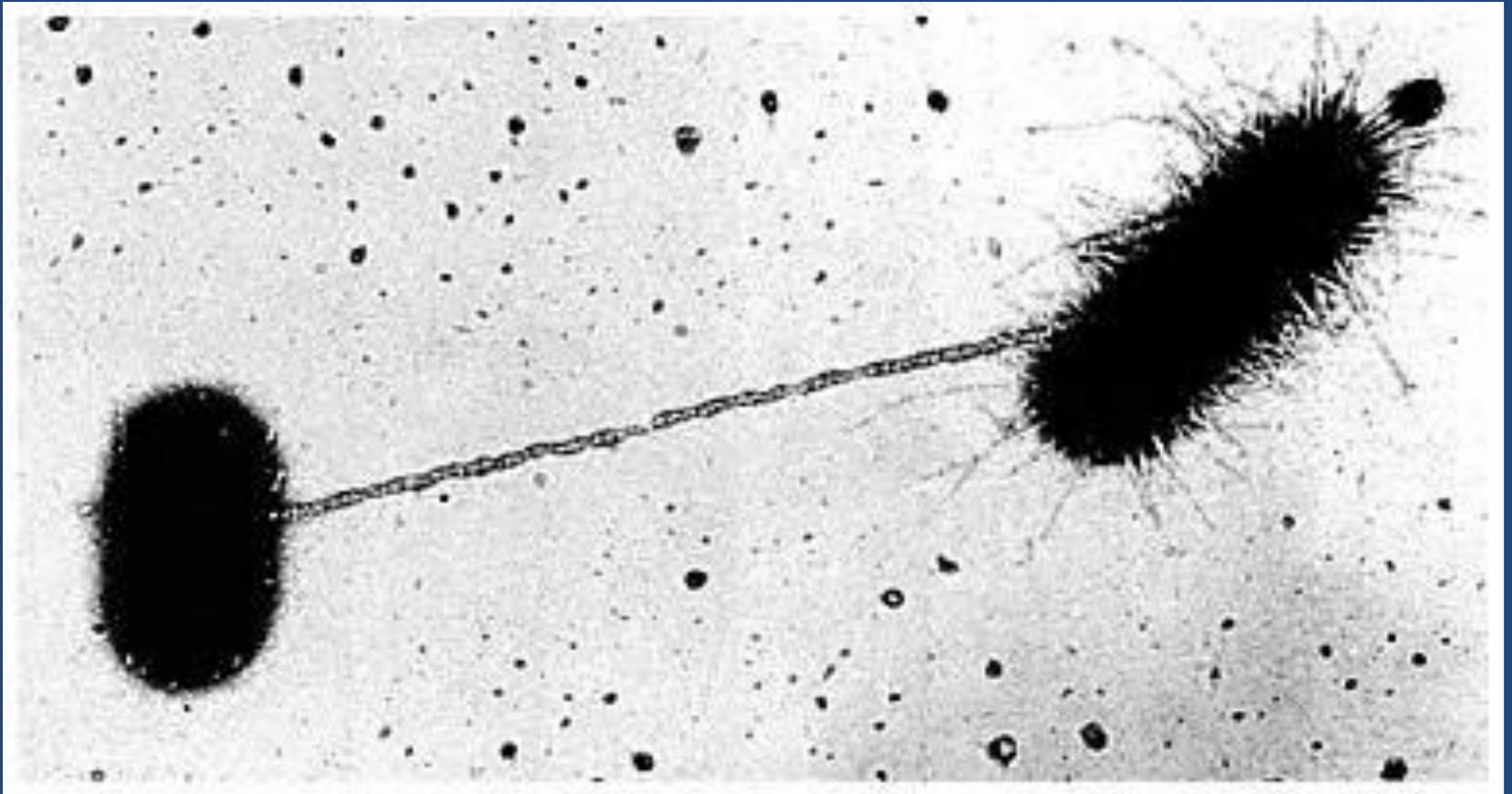


Органы прикрепления к субстрату – пили (фимбрии, ворсинки)

Белок -
ПИЛИ
Н



F – пили (пили фертильности)



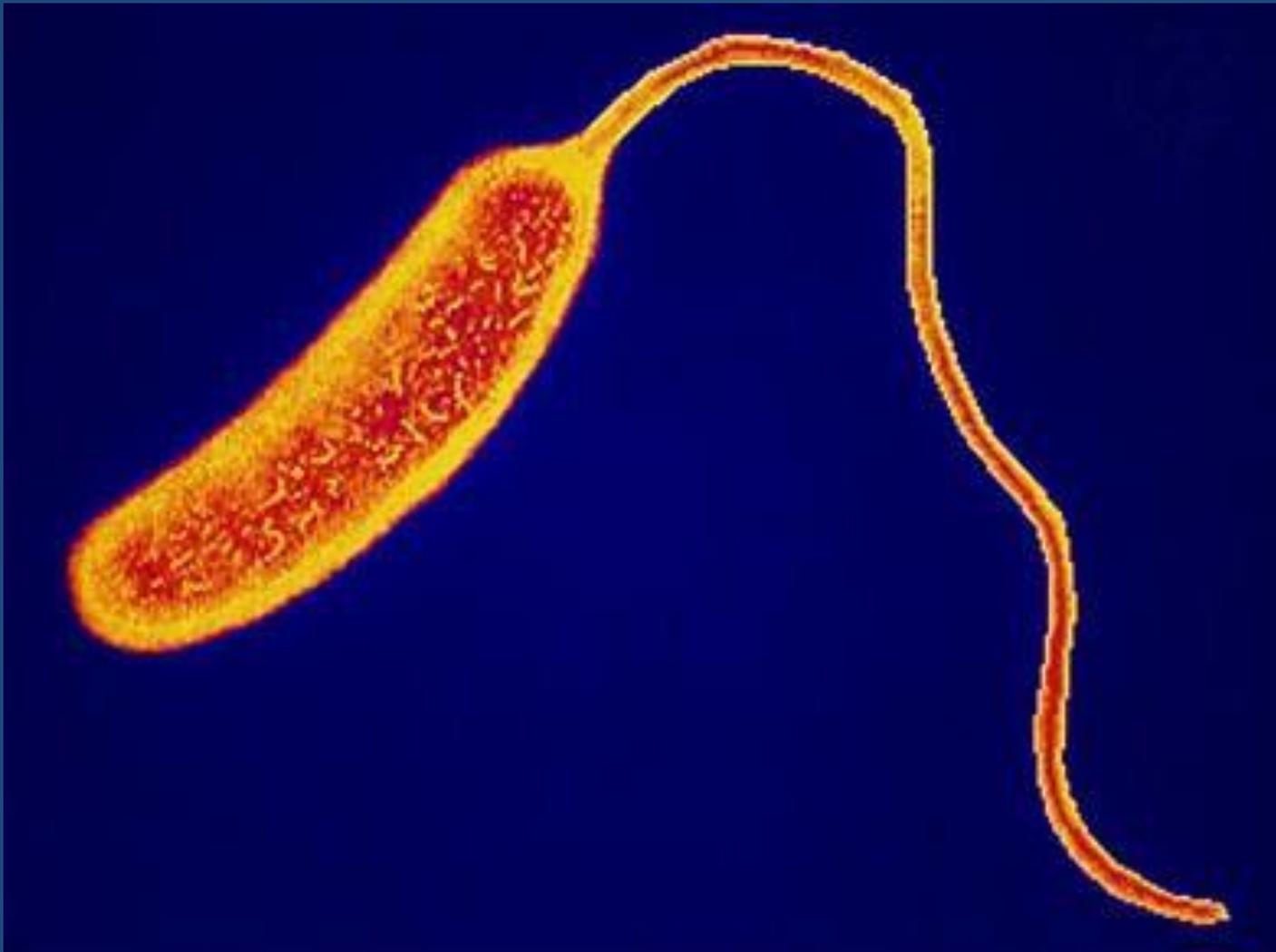
Участвуют в обмене генетической информацией между бактериальными клетками

Органы движения

Жгутики – спиральные нити

Белок - **флагеллин**

Монотрих (Trichos – волос)



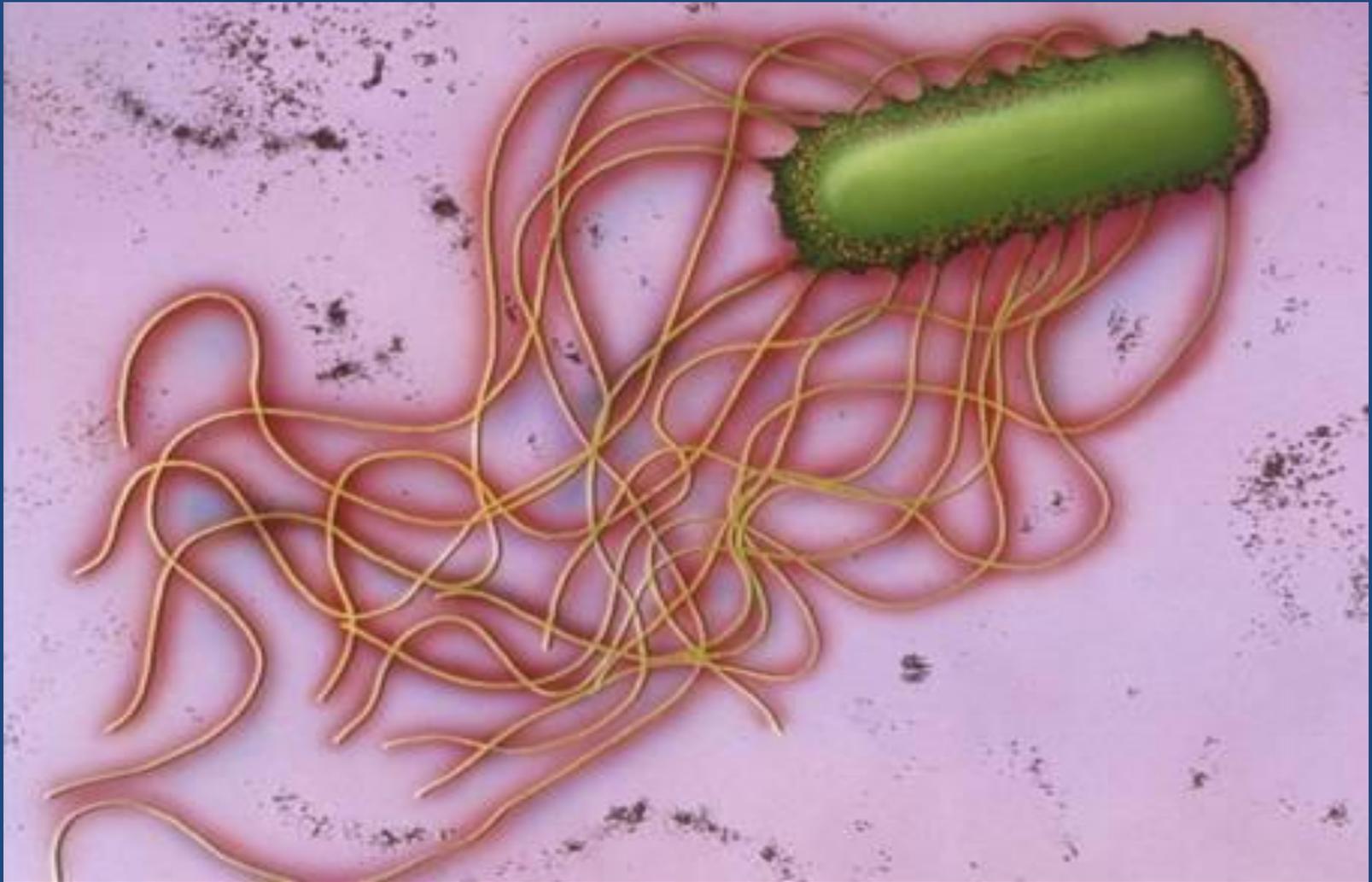
Лофотрихи (Lophos – кисточка)



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

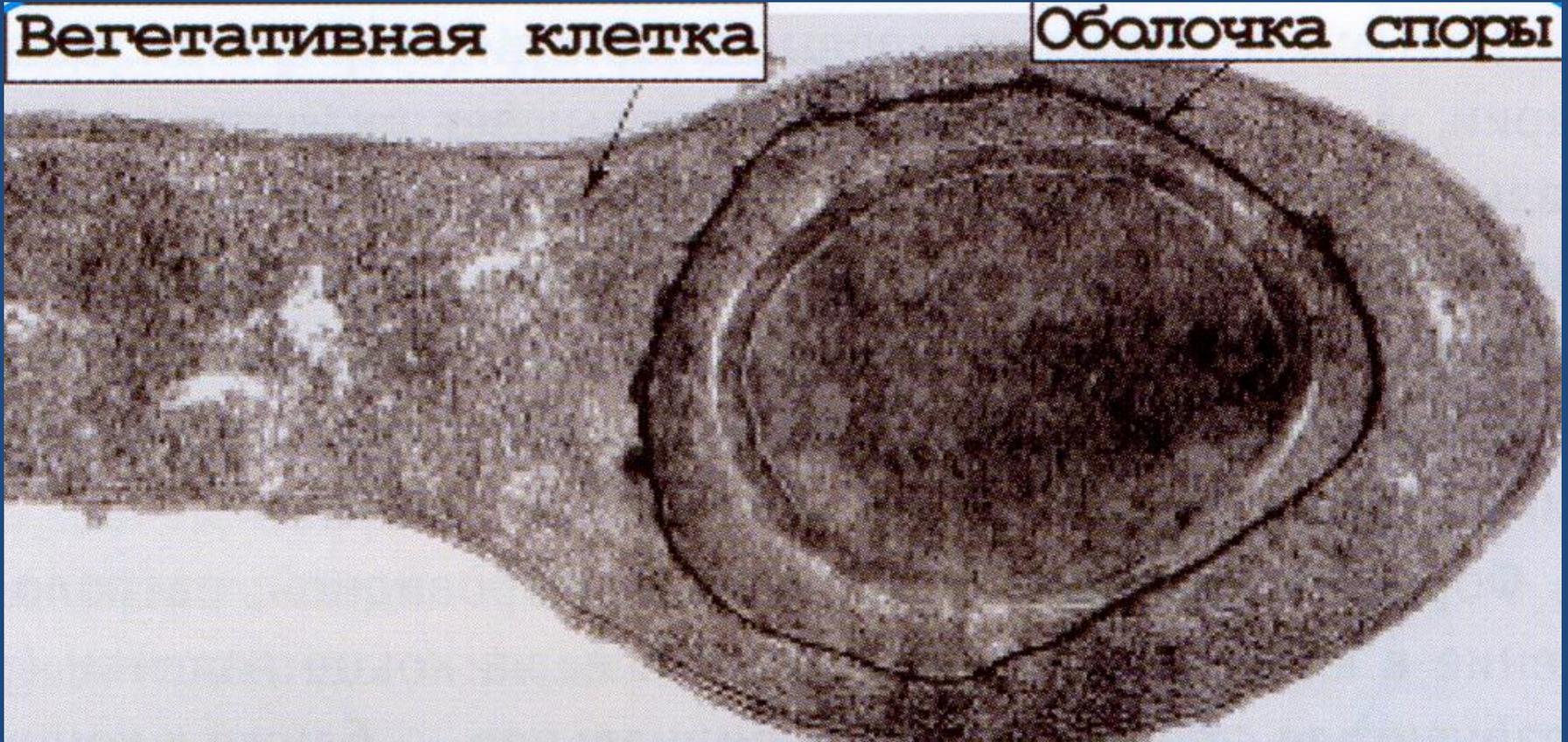


Bacillus

Спорообразование

Вегетативная клетка

Оболочка споры



Clostridium

Clostridium

и

Bacillus

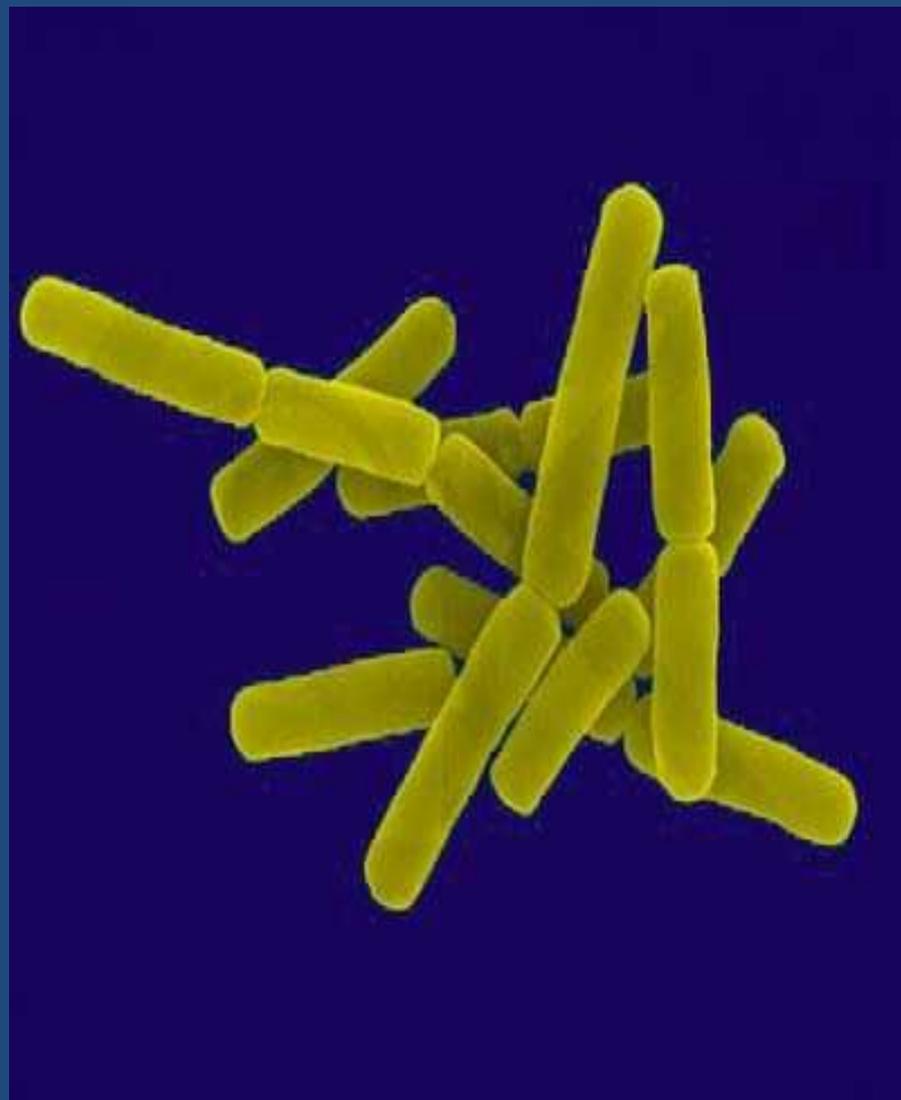
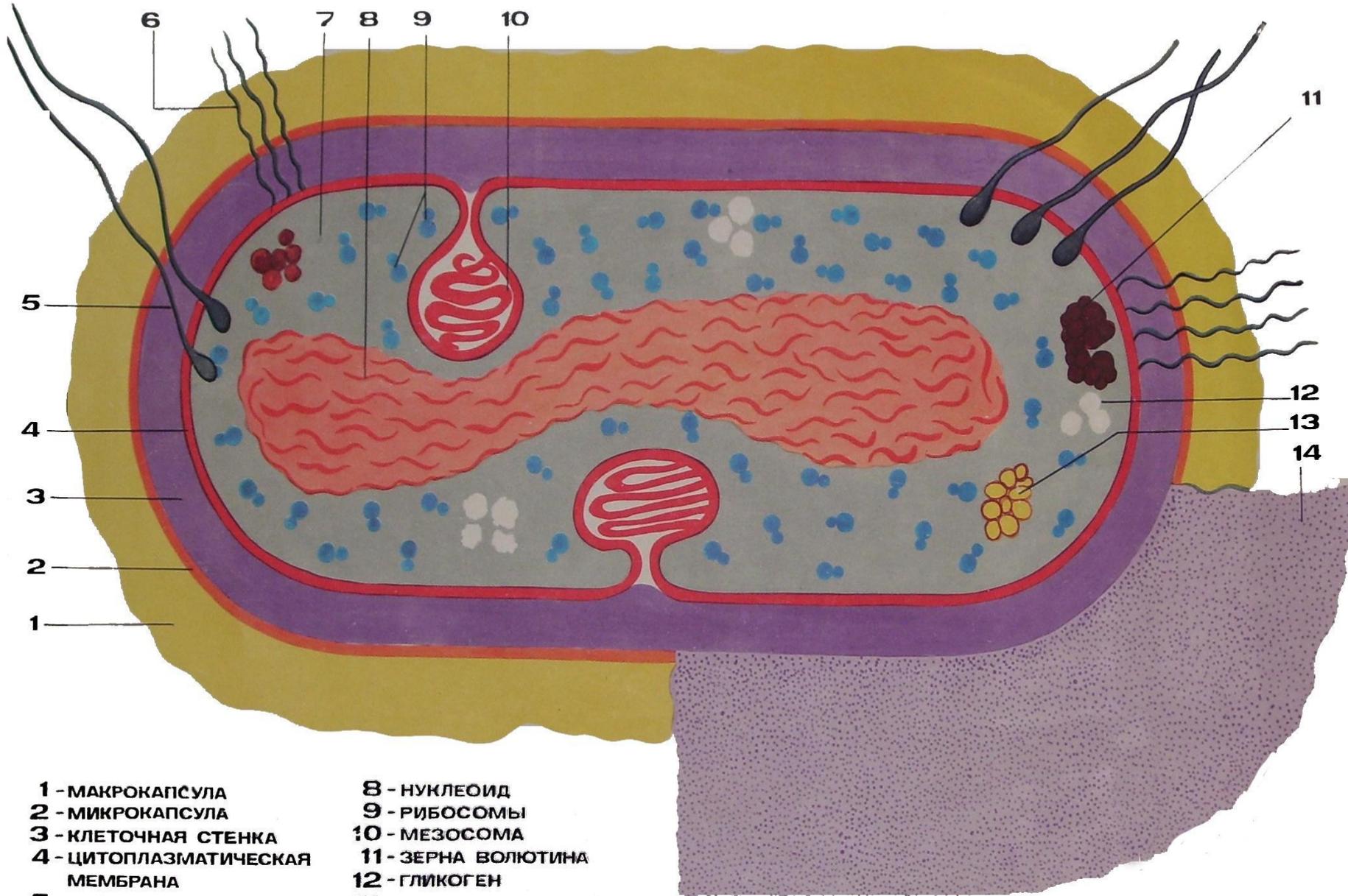


СХЕМА СТРОЕНИЯ БАКТЕРИАЛЬНОЙ КЛЕТКИ



- 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

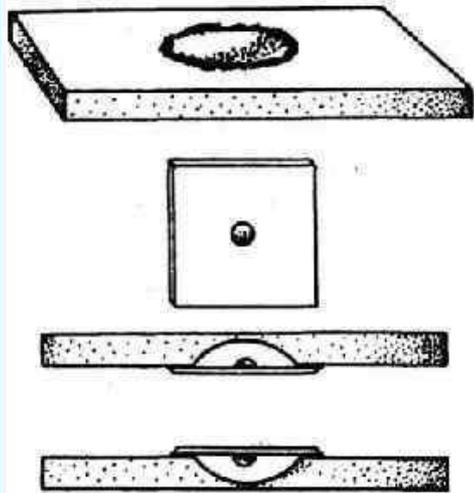
- Бактериоскопический метод
- Бактериологический метод
- Серологический метод
- Биологический метод
- Метод кожно-аллергических проб
- Молекулярно-биологический метод

Бактериоскопический метод

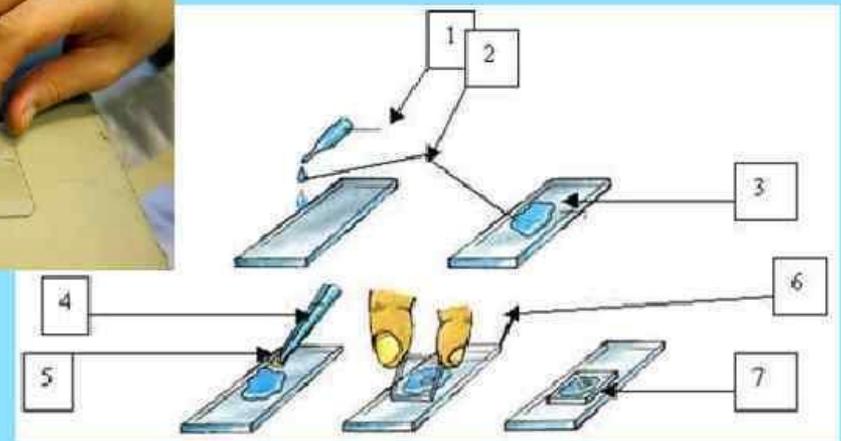
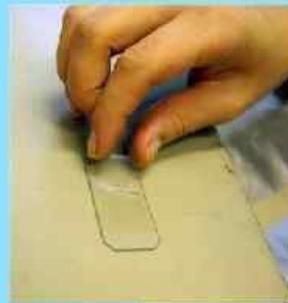
**изучение микроорганизмов путем их
микроскопирования в живом или
окрашенном состоянии**

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

Метод «висячей» капли



Метод «раздавленной» капли



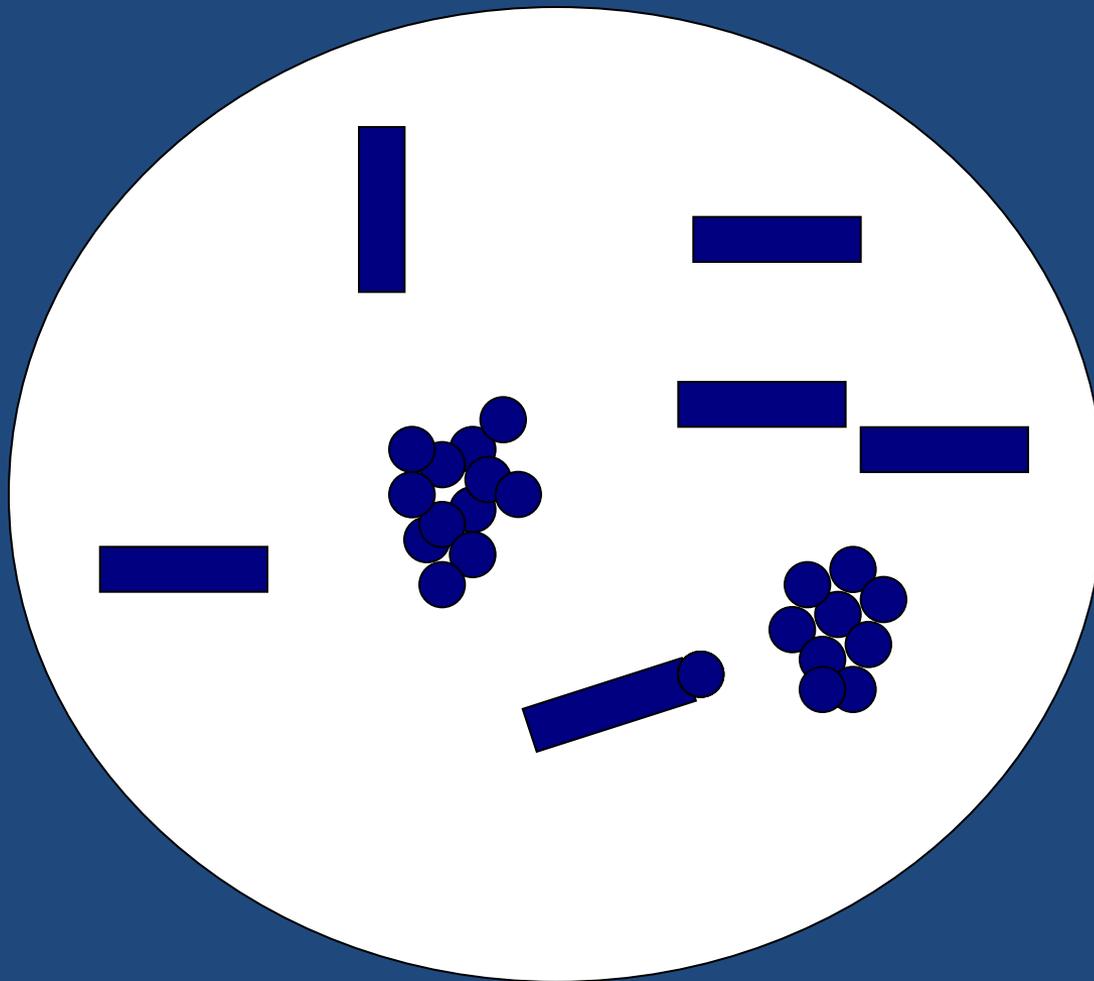
**ПРОСТЫЕ И СЛОЖНЫЕ
МЕТОДЫ ОКРАСКИ
МИКРООРГАНИЗМОВ**

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

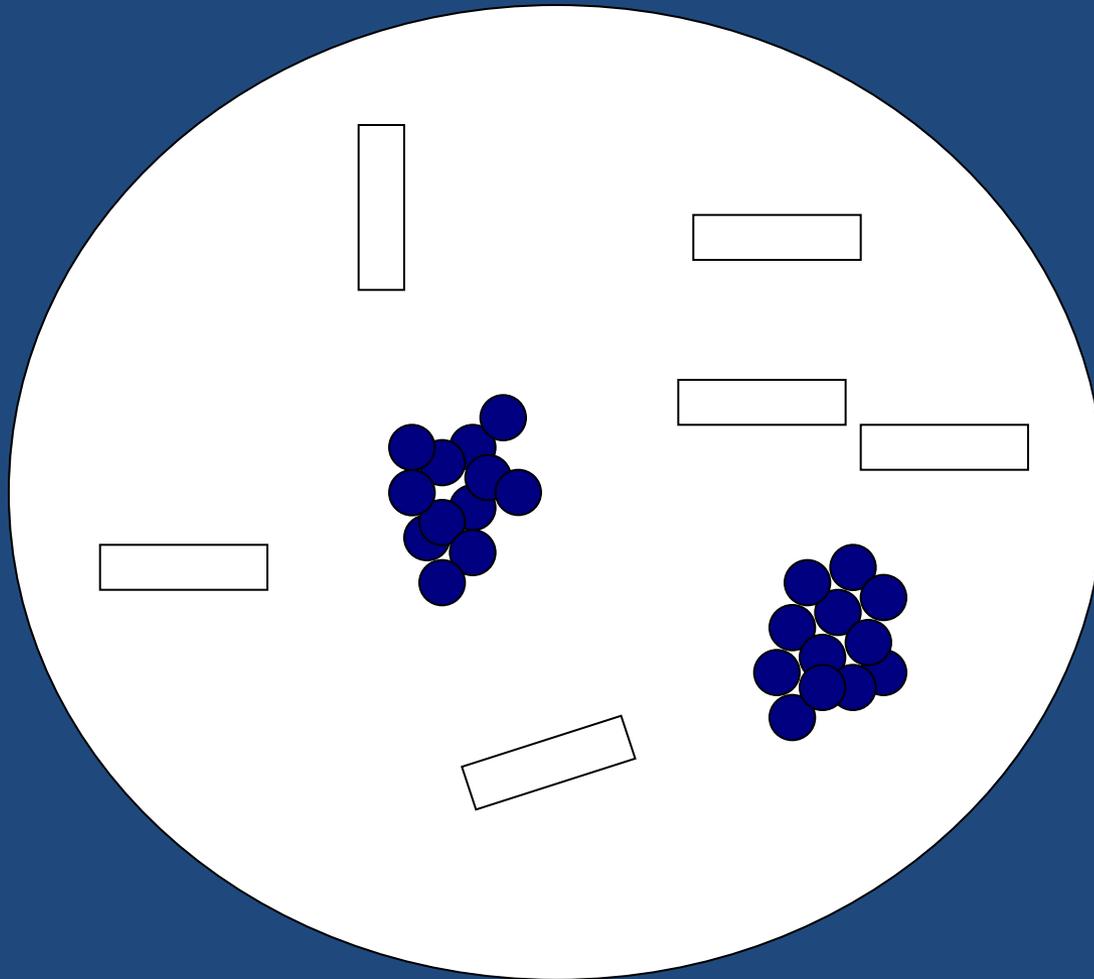
Карболово-спиртовой раствор генцианового фиолетового +
раствор Люголя



Окраска по Граму

3 этап

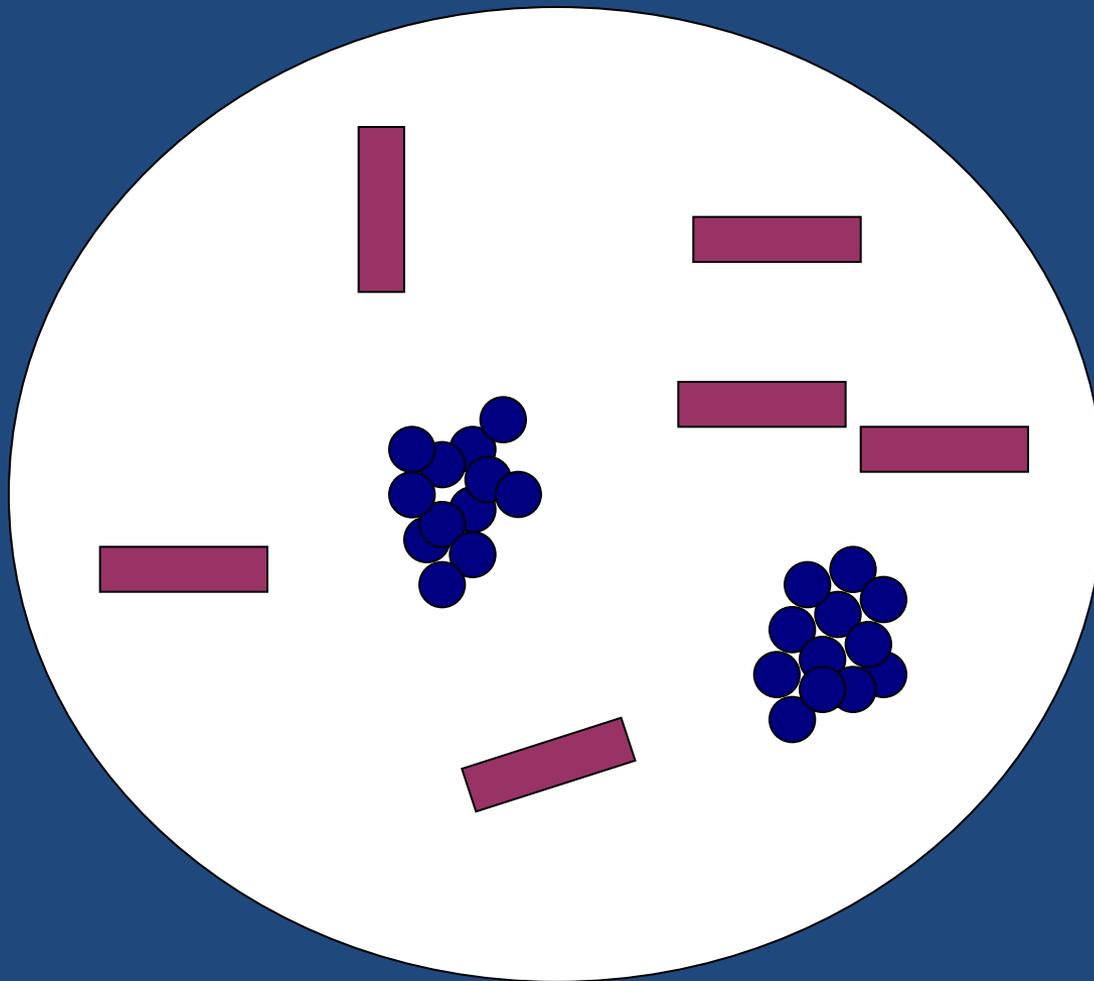
Обесцвечивают препарат этиловым спиртом



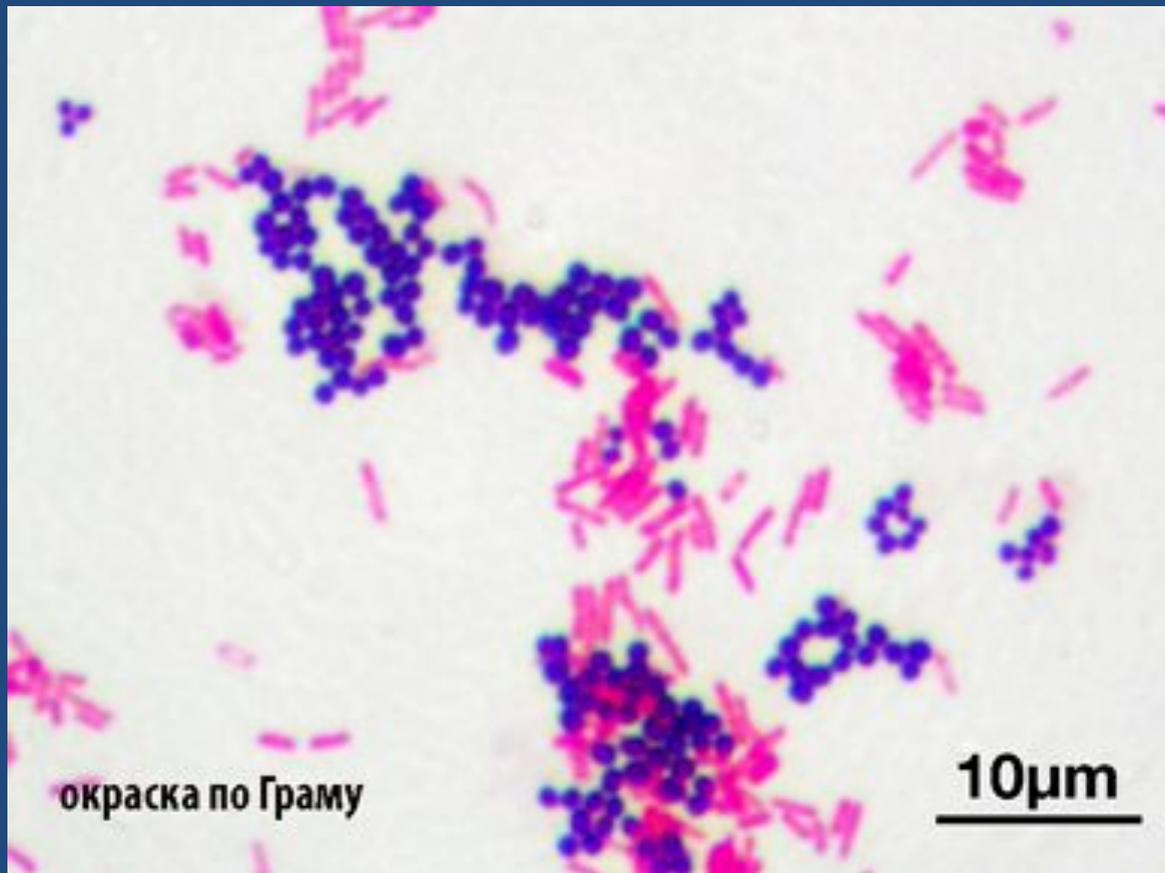
Окраска по Граму

4 этап

Мазок докрашивают водным раствором фуксина



Окраска по Граму



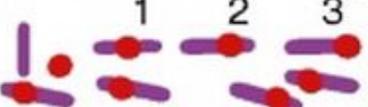
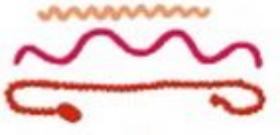
Грамположительные бактерии:

- 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 — красные с тонкой клеточной стенкой	Грамположительные бактерии — сине-фиолетовые с толстой клеточной стенкой
Гонококки 	Стафилококки 
Менингококки 	Стрептококки 
Вейлонеллы 	Пневмококки 
Палочки (<i>Escherichia coli</i> и др.) 	Палочки 
Вибрионы 	Бациллы 
Кампилобактерии 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.

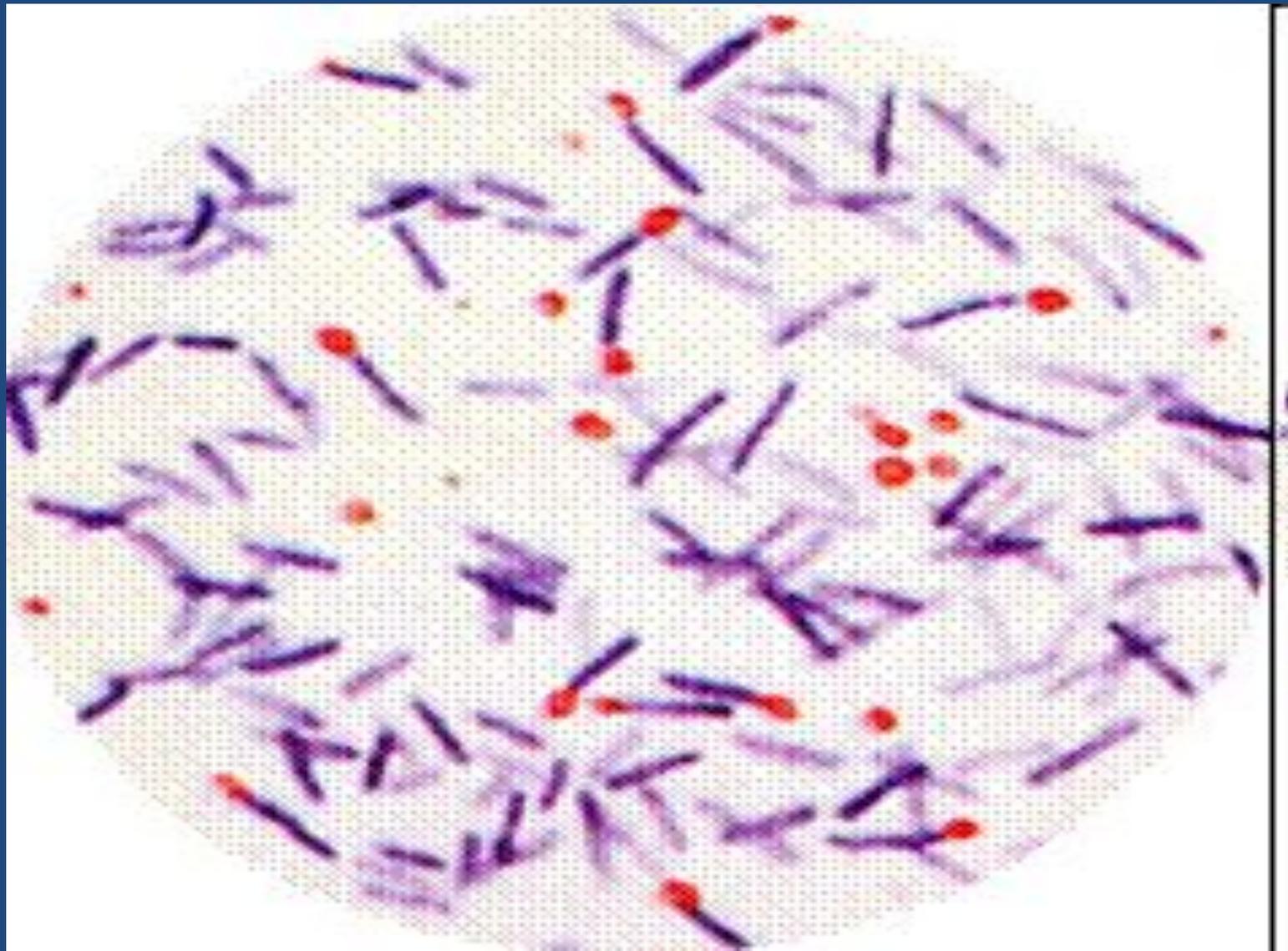
Окраска по Бурри-Гинсу



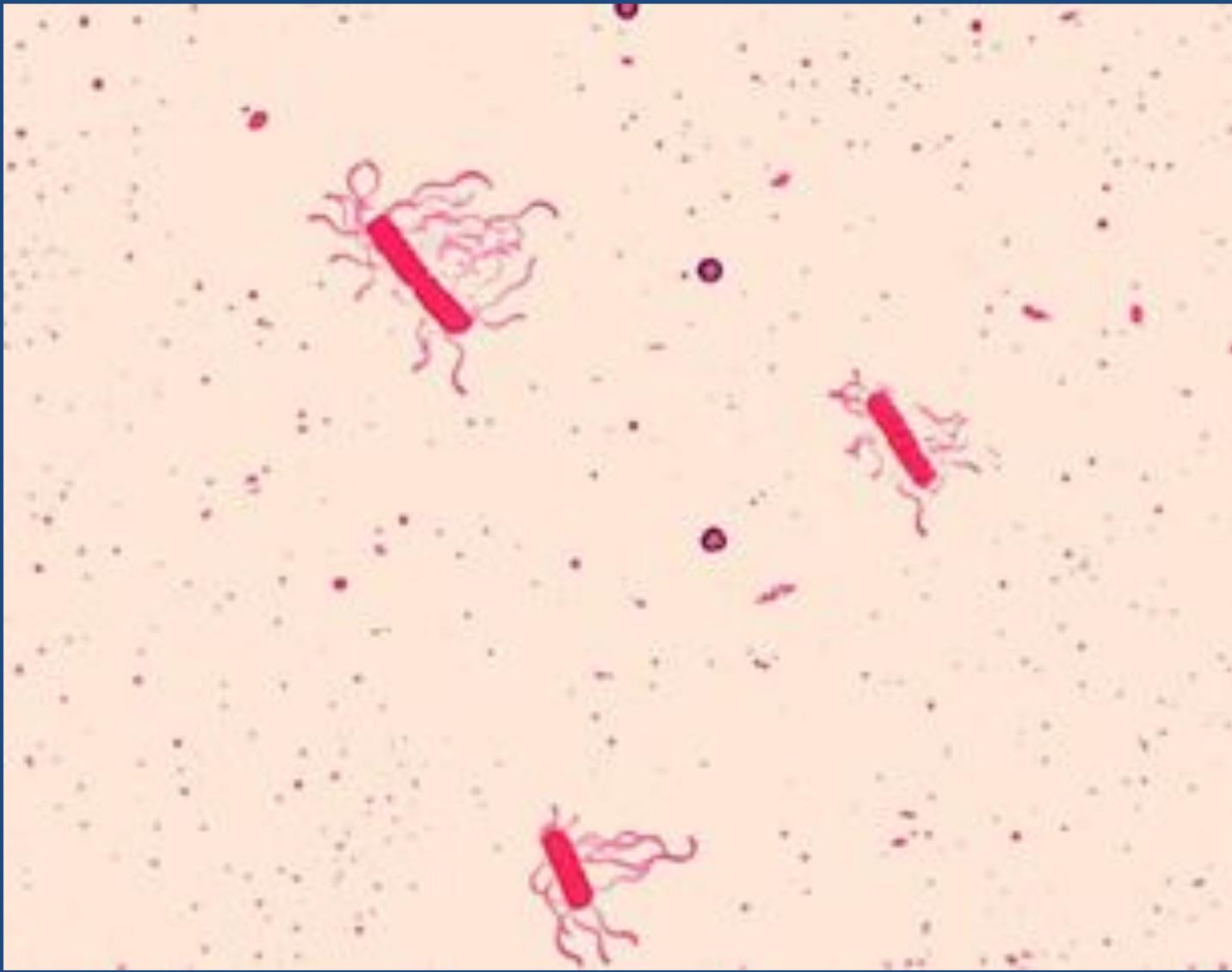
Окраска по Нейссеру



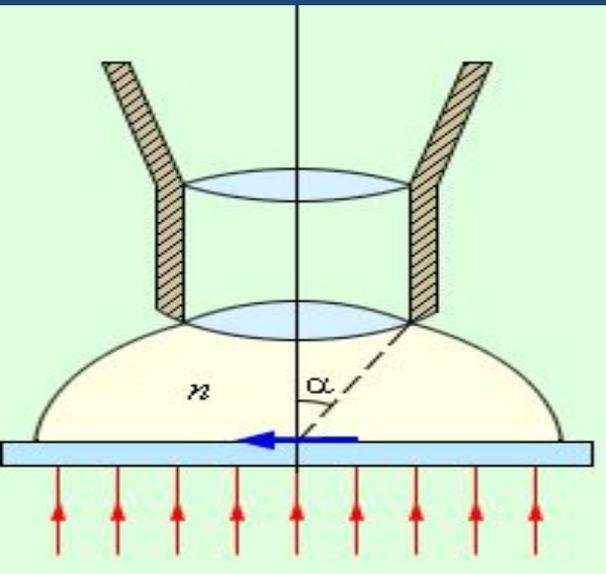
Окраска по Ожешки



Окраска по Леффлеру



Методы определения вида микроорганизмов



Световая микроскопия с иммерсионной системой;

Увеличение – 900 раз

Разрешающая способность – 0,2 мкм

Методы определения вида микроорганизмов



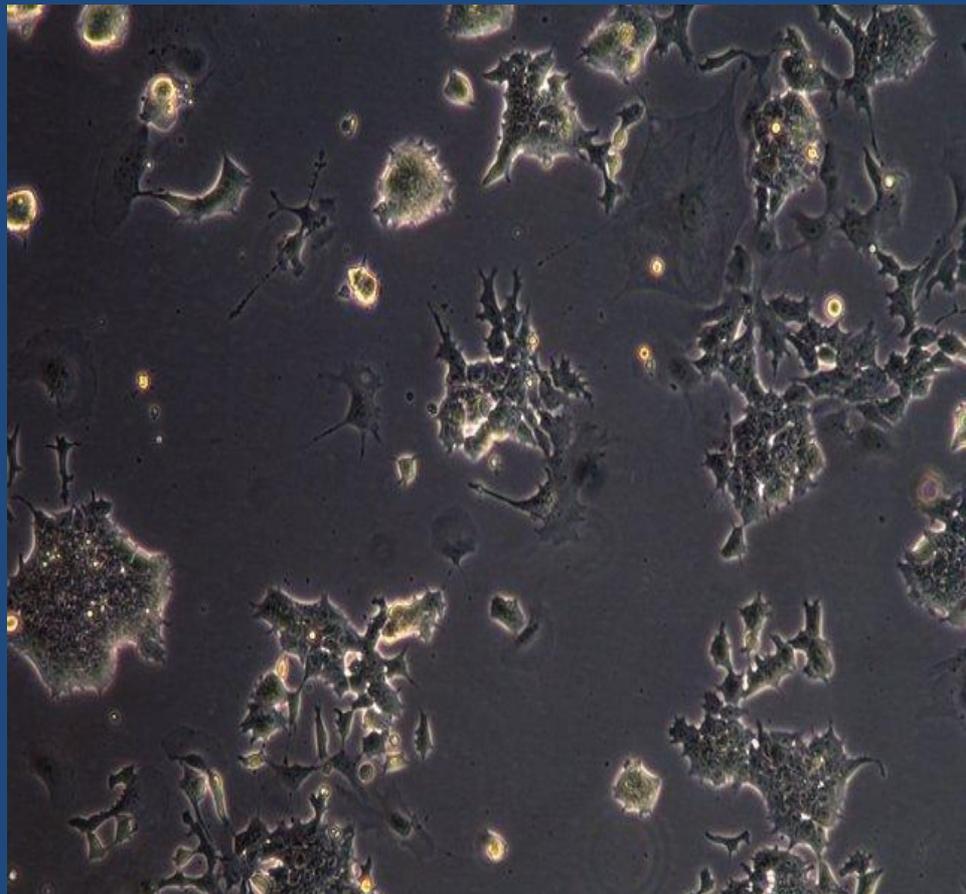
**Темнопольная
микроскопия** –
источник света
располагается сбоку,
сам рабочий столик
не освещается.

Treponema pallidum

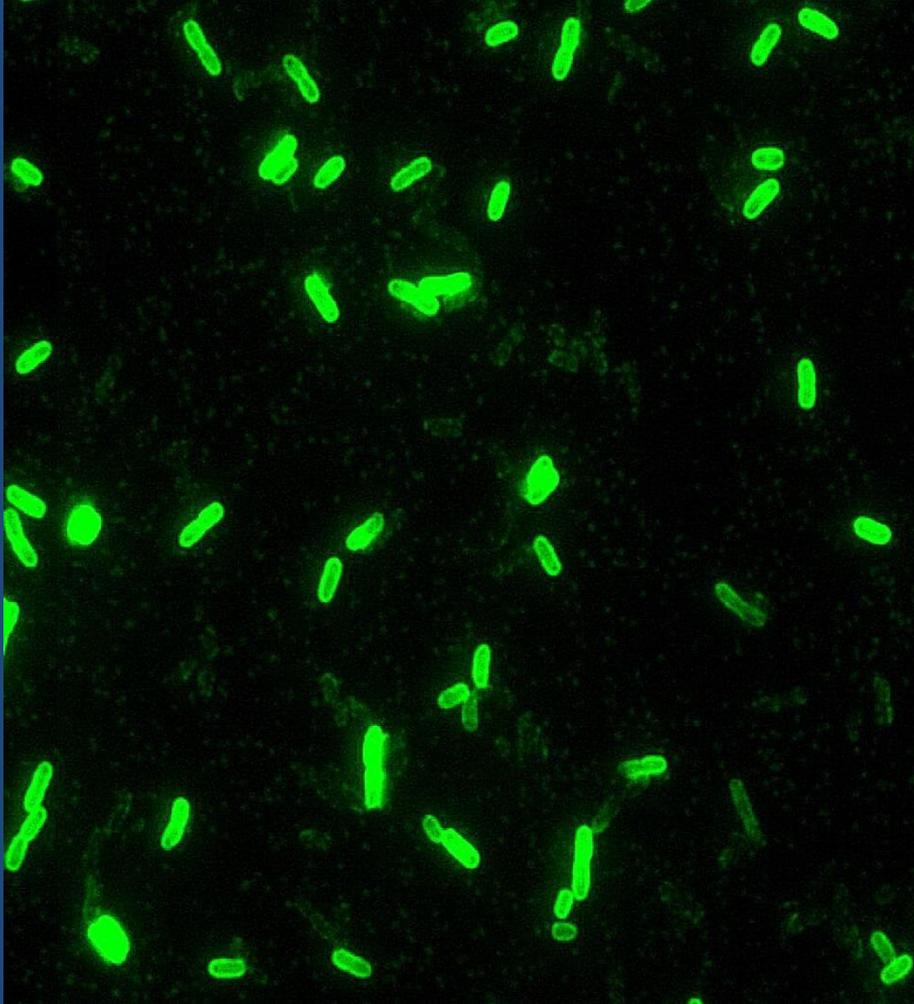
Методы определения вида микроорганизмов

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)

