Классификация и морфология микроорганизмов

Микробы, или микроорганизмы (бактерии, грибы, простейшие, вирусы), систематизированы по их сходству, различиям и взаимоотношениям между собой. Этим занимается специальная наука — систематика микроорганизмов. Систематика включает три части: классификацию, таксономию и идентификацию.

В основу таксономии (от греч. taxis — расположение, порядок) микроорганизмов положены их морфологические, физиологические, биохимические и молекулярно-биологические свойства.

Систематика микроорганизмов – это наука, изучающая принципы классификации, таксономии и идентификации микроорганизмов.

Различают следующие таксономические категории: царство, подцарство, отдел, класс, порядок, семейство, род, вид, подвид др. В рамках той или иной таксономической категории выделяют таксоны — группы организмов, объединенные по определенным инородным свойствам. Названия микроорганизмов регламентируются Международным кодексом номенклатуры

Микроорганизмы представлены доклеточными формами (вирусы — царство Vira) и клеточными формами (бактерии, архебактерии, грибы и простейшие). По новому высшему уровню в иерархии классификации среди клеточных форм жизни различают 3 домена (или «империи»): «Bacteria», «Archaea» и «Eukarya»

- домен «Bacteria» — прокариоты, представленные настоящими бактериями (эубактериями);
- домен «Archaea» — прокариоты, представленные архебактериями;
- домен «Eukarya» — эукариоты, клетки которых имеют ядро с ядерной оболочкой и ядрышком, а цитоплазма состоит из высоко организованных органелл — митохондрий, аппарата Гольджи и др.

Домен «Eukarya» включает:

- царство Fungi (грибы);
- царство животных Animalia (включает простейшие — подцарство Protozoa);
- царство растений Plantae.

Некоторые основные различия строения клеток эукариот и прокариот

Структуры и свойства клеток	**Прокариоты**	**Эукариоты**
Представители	Бактерии	Животные, растения, грибы, простейшие
ДНК	Кольцевая, в цитоплазме нет ядерной мембраны	Организованы в хромосомы и окружена ядерной мембраной
Цитоплазма	Отсутствует цитоскелет, нет цитоплазматических течений	Есть

Митохондрии, аппарат Гольджи, эндоплазматическая сеть, лизосомы	Нет	Есть
РНК и белки	Синтезируются в одном компартменте	РНК синтезируется в ядре, синтез белков – в цитоплазме
Органеллы движения	Жгутики	Жгутики, псевдоподии, реснички
Мезосомы	Есть	Нет
Деление клеток	Бинарное	Митоз или мейоз
Метаболизм	Аэробный или анаэробный	Аэробный, редко анаэробный
Эндоспоры как способ сохранения в неблагоприятных условиях	У бацилл	Нет

Домены включают царства, типы, классы, порядки, семейства, роды, виды. Одной из основных таксономических категорий является вид (species).

Вид (species) — это совокупность особей, объединенных по близким свойствам, но отличающихся от других представителей рода

Совокупность однородных микроорганизмов, выделенных на питательной среде, характеризующихся сходными морфологическими, тинкториальными, культуральными, биохимическими и антигенными свойствами, называется ***чистой культурой***.

Чистая культура микроорганизмов, выделенных из определенного источника и отличающихся от других представителей вида, называется ***штаммом***.

Штамм — более узкое понятие, чем вид или подвид. Близким к понятию штамма является понятие клона.

Клон представляет собой совокупность потомков, выращенных из единственной микробной клетки.

Для обозначения некоторых совокупностей микроорганизмов, отличающихся по тем или иным свойствам, употребляется суффикс *var* (разновидность) вместо ранее применявшегося *type.*

Поэтому микроорганизмы в зависимости от характера различий обозначают:

Морфовары – совокупность микроорганизмов со сходной морфологией

Резистентовары – микроорганизмы со сходной устойчивостью, например, к антибиотикам

Серовары – микроорганизмы со сходными антигенами

Фаговары – микроорганизмы со сходной чувствительностью к бактериофагам

Биовары – микроорганизмы со сходными биологическими свойствами

Хемовары – микроорганизмы со сходными биохимическими свойствами

При изучении микроорганизмов используют ряд методов:

1. **Бактериоскопический** (микроскопический). С помощью микроскопа в специально приготовленных препаратах изучают форму, структуру, размер, подвижность, тинкториальные свойства. Используются различные типы микроскопов — световой, фазово-контрастный, темнопольный, люминесцентный и электронный.

2. **Бактериологический** метод предусматривает посев микроорганизмов на питательные среды, изоляцию отдельных видов в чистой культуре, изучение характера их роста и идентификацию.

3. **Биохимический** метод дает информацию о ферментативных свойствах.

4. **Серологический** метод используется в целях изучения антигенной структуры микроорганизма.

5. **Биологический** метод, основанный на введении экспериментальным животным или растениям выделенных микроорганизмов или их метаболитов, устанавливает наличие или отсутствие у них патогенности (способности вызывать заболевание).

6. **Молекулярно-генетический** метод применяется в тех случаях, когда идентификация с помощью перечисленных методов затруднена (метод молекулярных генных зондов, полимеразная цепная реакция и др).

Таким образом, для идентификации и типирования бактерий используют фенотипические, генотипические и филогенетические показатели.

Решением Международного кодекса для бактерий рекомендованы следующие таксономические категории: класс, отдел, порядок, семейство, род, вид. Название вида соответствует бинарной номенклатуре, т. е. состоит из двух слов.

Например, возбудитель сифилиса пишется как *Treponema pallidum.*При повторном упоминании вида родовое название сокращается до начальной буквы, например: *T. pallidum.*

Бактерии относятся к прокариотам, т.е. доядерным организмам, поскольку у них имеется примитивное ядро без оболочки, ядрышка, гистонов, а в цитоплазме отсутствуют высокоорганизованные органеллы (митохондрии, аппарат Гольджи, лизосомы и др.).

В старом Руководстве Берджи по систематической бактериологии бактерии делили по особенностям клеточной стенки бактерий на 4 отдела:

- ***Gracilicutes*** — эубактерии с тонкой клеточной стенкой, грамотрицательные;
- ***Firmicutes*** — эубактерии с толстой клеточной стенкой, грамположи-тельные;
- ***Tenericutes*** — эубактерии без клеточной стенки;
- ***Mendosicutes*** — архебактерии с дефектной клеточной стенкой.

Каждый отдел был разделен на секции, или группы, по окраске по Граму, форме клеток, потребности в кислороде, подвижности, особенностям метаболизма и питания.

Согласно 2-му изданию (2001 г.) Руководства Берджи, бактерии делят на 2 домена: «Bacteria» и «Archaea».

Домен «Bacteria» (эубактерии):

- бактерии с тонкой клеточной стенкой, грамотрицательные
- бактерии с толстой клеточной стенкой, грамположительные;
- бактерии без клеточной стенки (класс Mollicutes – михоплазмы)

Домен «Archaea» (архебактерии)

Архебактерии не содержат пептидогликан в клеточной стенке. Они имеют особые рибосомы и рибосомные РНК (рРНК). Термин «архебактерии» появился в 1977 г. Это одна из древних форм жизни, на что указывает приставка «архе». Среди них нет возбудителей инфекций.

Большинство грамотрицательных бактерий объединены в тип протеобактериий, основанный на сходстве по рибосомной РНК («Proteobacteria» — по имени греческого бога Протеуса, принимавшего разнообразные облики). Они появились от общего фотосинтетического предка.

Грамположительные бактерии, согласно изученным последовательностям рибосомной РНК, являются отдельной филогенетической группой с двумя большими подотделами — с высоким и низким соотношением G+C (генетическое сходство). Как и протеобактерии, эта группа метаболически разнообразная.

В домен «Bacteria» входят 22 типа, из которых медицинское значение имеют следующие:

Тип Proteobacteria

- **Класс Alphaproteobacteria**. Роды: Rickettsia, Drientia, Ehrlichia, Bartonella, Brucella
- **Класс Betaproteobacteri**a. Роды: Burkholderia, Alcaligenes, Bordetella, Neisseria, Kingella, Spirillum
- **Класс Gammaproteobacteria**. Роды: Francisella, Legionella, Coxiella, Pseudomonas, Moraxella, Acinetobacter, Vibrio, Enterobacter, Callimatobacterium, Citrobacter, Edwardsiella, Erwinia, Escherichia, Hafnia, Klebsiella, Morganella, Proteus, Providencia, Salmonella, Serratia, Shigella, Yersinia, Pasteurella
- **Класс Deltaproteobacteria**. Род: Bilophila
- **Класс Epsilonproteobacteria**. Роды: Campylobacter, Helicobacter, Wolinella

Тип Firmicutes

- Класс Clostridia. Роды: Clostridium, Sarcina, Peptostreptococcus, Eubacterium, Peptococcus, Veillonella
- Класс Mollicutes. Роды: Mycoplasma, Ureaplasma
- Класс Bacilli. Роды: Bacillus, Sporosarcina, Listeria, Staphylococcus, Gemella, Lactobacillus, Pediococcus, Aerococcus, Leuconostoc, Streptococcus, Lactococcus

Тип Actinobacteria

- Класс Actinobacteria. Роды: Actinomyces, Arcanodacterium, Mobiluncus, Micrococcus, Rothia, Stomatococcus, Corynebacterium, Mycobacterium, Nocardia, Propionibacterium, Bifidobacterium, Gardnerella

Тип Clamydiae

- Класс Clamydiae. Роды: Clamydia, Clamydophila

Тип Spirochaetes

- Класс Spirochaetes. Роды: Spirochaeta, Borrelia, Treponema, Leptospira

Тип Bacteroidetes

- Класс Bacteroidetes. Роды: Bacteroides, Porphyromonas, Prevotella
- Класс Flavobacteria. Роды: Flavobacterium

Подразделение бактерий по особенностям строения клеточной стенки связано с возможной вариабельностью их окраски в тот или иной цвет по методу Грама. Согласно этому методу, предложенному в 1884 г. датским ученым Х. Грамом, в зависимости от результатов окраски бактерии делятся на грамположительные, окрашиваемые в сине-фиолетовый цвет, и грамотрицательные, красящиеся в красный цвет.

Однако оказалось, что бактерии с так называемым грамположительным типом клеточной стенки (более толстой, чем у грамотрицательных бактерий), например, бактерии рода Mobiluncus и некоторые спорообразующие бактерии, вместо обычной грамположительной окраски имеют грамотрицательную окраску. Поэтому для таксономии бактерий большую значимость, чем окраска по Граму, имеют особенности строения и химического состава клеточных стенок.

Формы бактерий

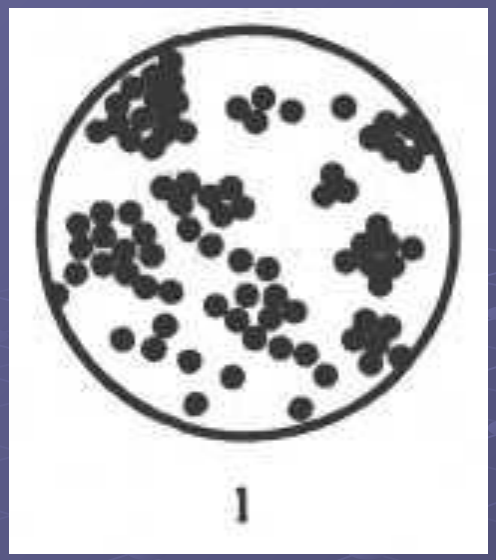
Различают несколько основных форм бактерий — кокковидные, палочковидные, извитые и ветвящиеся, нитевидные формы бактерий.

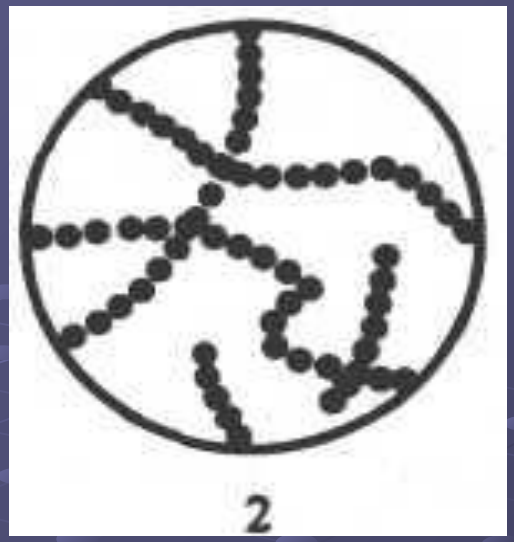
Сферические формы, или кокки, — шаровидные бактерии размером 0,5—1,0 мкм*, которые по взаимному расположению делятся на микрококки, диплококки, стрептококки, тетракокки, сарцины и стафилококки.

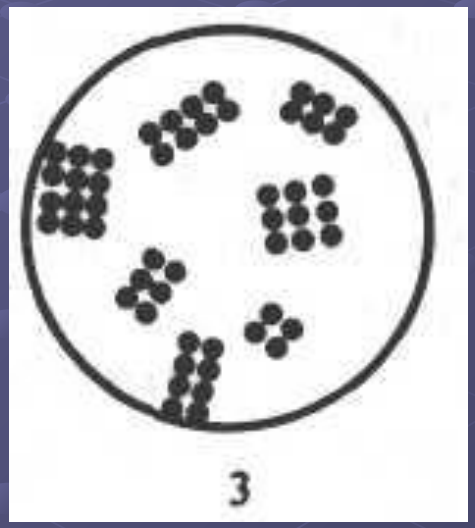
• **Микрококки** (от греч. micros — малый) — отдельно расположенные клетки.

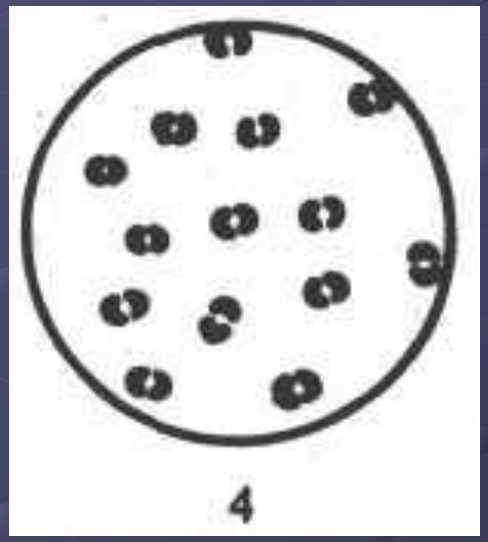
• **Диплококки** (от греч. diploos — двойной), или парные кокки, располагаются парами (пневмококк, гонококк, менингококк), так как клетки после деления не расходятся. Пневмококк (возбудитель пневмонии) имеет с противоположных сторон ланцетовидную форму, а гонококк (возбудитель гонореи) и менингококк (возбудитель эпидемического менингита) имеют форму кофейных зерен, обращенных вогнутой поверхностью друг к другу.

- **Стрептококки** (от греч. streptos — цепочка) — клетки округлой или вытянутой формы, составляющие цепочку вследствие деления клеток в одной плоскости и сохранения связи между ними в месте деления.
- **Сарцины** (от лат. sarcina — связка, тюк) располагаются в виде пакетов из 8 и более кокков, так как они образуются при делении клетки в трех взаимно перпендикулярных плоскостях.
- **Стафилококки** (от греч. staphyle — виноградная гроздь) — кокки, расположенные в виде грозди винограда в результате деления в разных плоскостях.





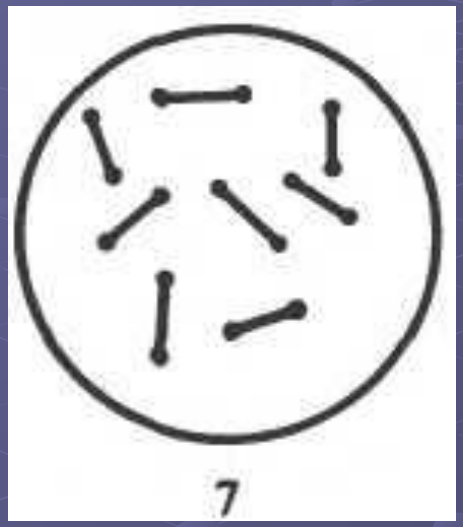


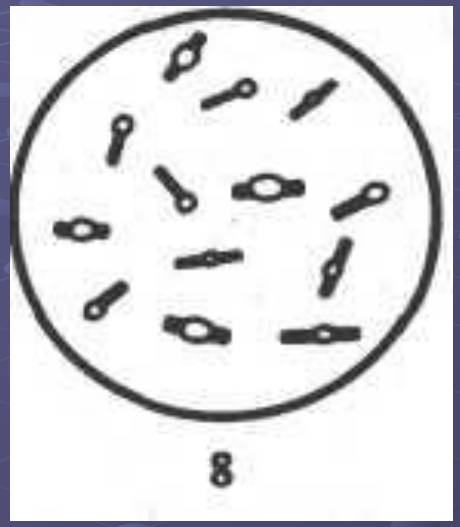


1 — стафилококки; 2 — стрептококки; 3 — сарцина; 4 — диплококки

***Палочковидные* бактерии** различаются по размерам, форме концов клетки и взаимному расположению клеток. Длина клеток варьирует от 1,0 до 10 мкм, толщина — от 0,5 до 2,0 мкм. Палочки могут быть правильной (кишечная палочка и др.) и неправильной (коринебактерии и др.) формы, в том числе ветвящиеся, например, у актиномицетов. К наиболее мелким палочковидным бактериям относятся риккетсии.

Концы палочек могут быть как бы обрезанными (сибиреязвенная бацилла), закругленными (кишечная палочка), заостренными (фузобактерии) или в виде утолщения. В последнем случае палочка похожа на булаву (коринебактерии дифтерии).





7 — коринебактерии дифтерии; 8 — клостридии;
9 — стрептобациллы;

Слегка изогнутые палочки называются *вибрионами* (холерный вибрион). Большинство палочковидных бактерий располагается беспорядочно, так как после деления клетки расходятся. Если после деления клетки остаются связанными общими фрагментами клеточной стенки и не расходятся, то они располагаются под углом друг к другу (коринебактерии дифтерии) или образуют цепочку (сибиреязвенная бацилла). Извитые формы — спиралевидные бактерии, пример спириллы, имеющие вид штопорообразно извитых клеток. К патогенным спириллам относится возбудитель содоку (болезнь укуса крыс). К извитым также относятся кампилобактерии и хеликобактерии, имеющие изгибы как у крыла летящей чайки; близки к ним такие бактерии, как спирохеты.

Спирохеты — тонкие, длинные, извитые (спиралевидной формы) бактерии, отличающиеся от спирилл подвижностью, обусловленной сгибательными изменениями клеток. Спирохеты состоят из наружной мембраны (клеточной стенки), окружающей протоплазматический цилиндр с цитоплазматической мембраной и аксиальной нитью (аксистиль). Аксиальная нить находится под наружной мембраной клеточной стенки (в периплазме) и как бы закручивается вокруг протоплазматического цилиндра спирохеты, придавая ей винтообразную форму (первичные завитки спирохет). Аксиальная нить состоит из периплазматических фибрилл — аналогов жгутиков бактерий и представляет собой сократительный белок флагеллин.

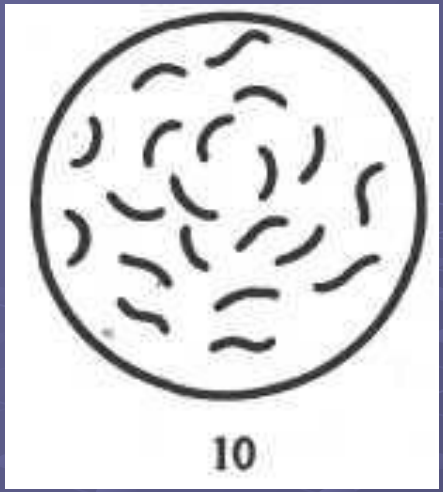
Фибриллы прикреплены к концам клетки и направлены навстречу друг другу. Другой конец фибрилл свободен. Число и расположение фибрилл варьируют у разных видов. Фибриллы участвуют в передвижении спирохет, придавая клеткам вращательное, сгибательное и поступательное движение. При этом спирохеты образуют петли, завитки, изгибы, которые названы вторичными завитками. Спирохеты плохо воспринимают красители. Обычно их окрашивают по Романовскому—Гимзе или серебрением. В живом виде спирохеты исследуют с помощью фазово-контрастной или темнопольной микроскопии.

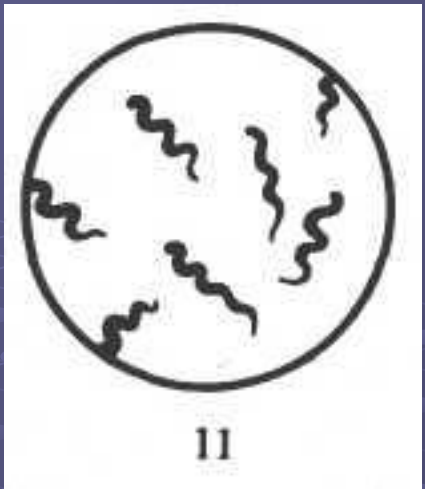
Спирохеты представлены 3 родами, патогенными для человека: Treponema, Borrelia, Leptospira.

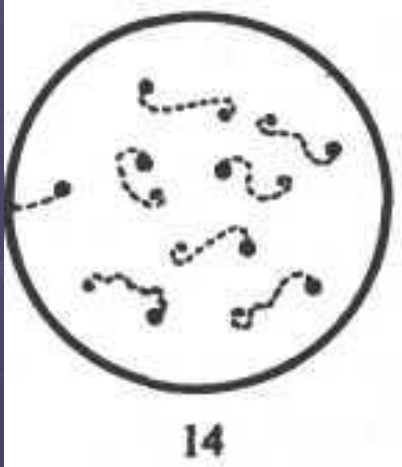
Трепонемы (род Treponema) имеют вид тонких штопорообразно закрученных нитей с 8-12 равномерными мелкими завитками. Вокруг протопласта трепонем расположены 3—4 фибриллы (жгутики). В цитоплазме имеются цитоплазматические филаменты. Патогенными представителями являются T. pallidum — возбудитель сифилиса, T. pertenue — возбудитель тропической болезни — фрам-безии. Имеются и сапрофиты — обитатели полости рта человека, ила водоемов.

Боррелии (род Borrelia), в отличие от трепонем, более длинные, имеют по 3—8 крупных завитков и 7—20 фибрилл. К ним относятся возбудитель возвратного тифа (B. recurrentis) и возбудители болезни Лайма (B. burgdorferi и др.).

Лептоспиры (род Leptospira) имеют завитки неглубокие и частые — в виде закрученной веревки. Концы этих спирохет изогнуты наподобие крючков с утолщениями на концах. Образуя вторичные завитки, они приобретают вид букв S или C; имеют 2 осевые нити (жгутики). Патогенный представитель L. interrogans вызывает лептоспироз при попадании в организм с водой или пищей, приводя к развитию кровоизлияний и желтухи.







10 — вибрионы; 11 — спириллы; 12 — трепонемы;
13 — боррелии; 14 — лептоспиры;

По количеству и взаимному расположению *жгутиков* на поверхности микробной клетки выделяют 4 группы микроорганизмов:

монотрихи (имеют один жгутик),

лофотрихи (имеют несколько жгутиков на одном конце клетки),

амфитрихи (жгутики расположены на диаметрально противоположных концах клетки),

перитрихи (жгутики расположены по всему телу клетки).

16 — расположение жгутиков:
а — монотрихи, б — лофотрихи,
в — амфитрихи, г — перитрихи.

Риккетсии — мелкие, грамотрицательные палочковидные бактерии (0,3-2,0 мкм), облигатные (обязательные) внутриклеточные паразиты. Размножаются бинарным делением в цитоплазме, а некоторые — в ядре инфицированных клеток. Обитают в членистоногих (вшах, блохах, клещах) которые являются их хозяевами или переносчиками. Свое название риккетсии получили по имени Х. Т. Риккетса — американского ученого, впервые описавшего одного из возбудителей (пятнистая лихорадка Скалистых гор). Форма и размер риккетсии могут меняться (клетки неправильной формы, нитевидные) в зависимости от условий роста. Структура риккетсии не отличается от таковой грамотрицательных бактерий.

Риккетсии обладают независимым от клетки хозяина метаболизмом, однако, возможно, они получают от клетки хозяина макроэргические соединения для своего размножения. В мазках и тканях их окрашивают по Романовскому—Гимзе, по Маккиавелло—Здродовскому (риккетсии красного цвета, а инфицированные клетки — синего).

У человека риккетсии вызывают эпидемический сыпной тиф (Rickettsia prowazekii), клещевой риккетсиоз (R. sibirica), пятнистую лихорадку Скалистых гор (R. rickettsii) и другие риккетсиозы.

Хламидии — относятся к облигатным внутриклеточным кокковидным грамотрицательным (иногда грамвариабельным) бактериям. Хламидии размножаются только в живых клетках: их рассматривают как энергетических паразитов; Вне клеток хламидии имеют сферическую форму (0,3 мкм), метаболически неактивны и называются элементарными тельцами. Геном хламидии содержит в 4 раза меньше генетической информации, чем геном кишечной палочки.

Элементарные тельца попадают в эпителиальную клетку путем эндоцитоза с формированием внутриклеточной вакуоли. Внутри клеток они увеличиваются и превращаются в делящиеся ретикулярные тельца, образуя скопления в вакуолях (включения). Из ретикулярных телец образуются элементарные тельца, которые выходят из клеток путем экзоцитоза или лизиса клетки. Вышедшие из клетки элементарные тельца вступают в новый цикл, инфицируя другие клетки. У человека хламидии вызывают поражения глаз (трахома, конъюнктивит), урогенитального тракта, легких и др.

Актиномицеты — ветвящиеся, нитевидные или палочковидные грамположительные бактерии. Свое название (от греч. actis — луч, mykes — гриб) они получили в связи с образованием в пораженных тканях друз — гранул из плотно переплетенных нитей в виде лучей, отходящих от центра и заканчивающихся колбовидными утолщениями. Актиномицеты, как и грибы, образуют мицелий — нитевидные переплетающиеся клетки (гифы). Они формируют субстратный мицелий, образующийся в результате врастания клеток в питательную среду, и воздушный, растущий на поверхности среды.

Актиномицеты

Актиномицеты могут делиться путем фрагментации мицелия на клетки, похожие на палочковидные и кокковидные бактерии. На воздушных гифах актиномицетов образуются споры, служащие для размножения. Споры актиномицетов обычно не термостойки.

Общую филогенетическую ветвь с актиномицетами образуют так называемые нокардиоподобные (нокардиоформные) актиномицеты — собирательная группа палочковидных, неправильной формы бактерий. Их отдельные представители образуют ветвящиеся формы. К ним относят бактерии родов Corynebacterium, Mycobacterium, Nocardiauap.

Нокардиоподобные актиномицеты отличаются наличием в клеточной стенке сахаров арабинозы, галактозы, а также миколовых кислот и больших количеств жирных кислот. Миколовые кислоты и липиды клеточных стенок обуславливают кислотоустойчивость бактерий, в частности микобактерий туберкулеза и лепры (при окраске по Цилю—Нельсену они имеют красный цвет, а некислотоустойчивые бактерии и элементы ткани, мокроты — синий цвет).

Патогенные актиномицеты вызывают актиномикоз, нокардии — нокардиоз, микобактерии — туберкулез и лепру, коринебактерии — дифтерию. Сапрофитные формы актиномицетов и нокардиеподобных актиномицетов широко распространены в почве, многие из них являются продуцентами антибиотиков.

Микоплазмы — мелкие бактерии (0,15-1,0 мкм), окруженные только цитоплазматической мембраной. Они относятся к классу Mollicutes, содержат стеролы. Из-за отсутствия клеточной стенки микоплазмы осмотически чувствительны. Имеют разнообразную форму: кокковидную, нитевидную, колбовидную. Эти формы видны при фазово-контрастной микроскопии чистых культур микоплазм. На плотной питательной среде микоплазмы образуют колонии, напоминающие яичницу-глазунью: центральная непрозрачная часть, погруженная в среду и просвечивающая периферия в виде круга.

Микоплазмы вызывают у человека атипичную пневмонию (Mycoplasma pneumoniae) и поражения мочеполового тракта (M. hominis и др.). Микоплазмы вызывают заболевания не только у животных, но и у растений.

Достаточно широко распространены и непатогенные представители.

L-формы

Под воздействием некоторых внешних факторов бактерии могут терять клеточную стенку, образуя L-формы (названы в честь Института им. Джозефа Листера, где их впервые выделила Э. Клинебергер в 1935 г.). Форма подобных клеток может быть весьма разнообразной (нитевидной, шаровидной, палочковидной и т. д.), но практически всегда она отличается от исходной. Подобные превращения могут быть спонтанными или индуцированными (например, под воздействием антибиотиков).

Выделяют **стабильные и нестабильные L-формы.** Первые не способны к реверсии (то есть обратному восстановлению в исходные формы), а вторые реверсируют после удаления причинного фактора. Изменённые подобным образом патогенные бактерии способны вызвать персистирующую инфекцию, не реагируя на действие антибиотиков, ингибирующих синтез компонентов клеточной стенки (например, пенициллина).

Образование L-форм возможно как *in vitro,* так и *in vivo.* В последнем случае острые инфекции нередко становятся хроническими, так как бактерии, лишённые основных мишеней, распознаваемых защитными механизмами, легко «уходят» от их действия. Соответственно, *образование L-форм (равно как и спорообразование) можно рассматривать как важный механизм приспособления бактерий к неблагоприятным условиям.*

Нитевидные инволюционные формы

Некоторые палочковидные бактерии могут образовывать нитевидные формы, особенно в неблагоприятных условиях. Формирование подобных структур осуществляется путём соединения отдельных клеток с помощью слизи, мостиков или специальных полисахаридных футляров. Многие патогенные бактерии способны также образовывать нитевидные и даже ветвящиеся структуры при нарушениях условий роста и регуляции деления. После нормализации условий существования бактерии восстанавливают нормальные форму и размеры (реверсируют к исходному фенотипу). Следует помнить, что подобные инволюционные формы особенно часто наблюдают при культивировании на искусственных питательных средах либо при проведении антибактериальной терапии.