

Занятие 1

Введение в микробиологию.

Классификация, морфология,
ультраструктура бактерий и
методы их исследования

Предмет микробиология

Микробиология - (греч. **mikros**-малый, лат. **bios**-жизнь, **logos**-наука) - это наука, изучающая закономерности жизнедеятельности микроорганизмов, невидимых невооружённым глазом.

Общая микробиология – изучает морфологию (форму и строение), физиологию (питание, метаболизм, дыхание и размножение), генетику (наследственность и изменчивость) микроорганизмов.

Частная микробиология – изучает особенности отдельных микроорганизмов. В связи с этим она делится на такие разделы, как бактериология, вирусология, микология, протозоология.

КЛАССИФИКАЦИЯ ЦАРСТВА МИКРОБОВ



Классификация прокариот

➤ Д. Берджи – Современная классификация прокариот была предложена американским бактериологом в 1923 году. Она регулярно обновляется Международным Комитетом по Систематике бактерий.

➤ В последней 9-ой публикации прокариоты по строению клеточной стенки подразделяются на четыре категории.

Современная классификация прокариот по Берджи

- ▶ Грамотрицательные, имеющие клеточную стенку
эубактерии
- ▶ Грамположительные, имеющие клеточную стенку
эубактерии
- ▶ Эубактерии, не имеющие клеточную стенку
- ▶ Архебактерии

*В современной классификации прокариот имеется
24 типа, 33 класса*

*1. Эубактерии с тонкой Грам-отрицательной
клеточной стенкой - **Gracilicutes** 16 групп*

*2. Эубактерии с толстой Грам-положительной
клеточной стенкой – **Firmicutes** 13 групп*

*3. Эубактерии, не имеющие клеточной стенки –
микоплазмы - **Tenericutes** класс *Mollicutes* – 1
группа*

*4. У архебактерий клеточная стенка и
пептидогликан отсутствуют. Не вызывают
болезней у человека. Включают 5 групп.*

Классификация и таксономия бактерий

Домен бактерии

Прокариоты

Эубактерии

Архебактерии

Gracilicutes
Грам-
отрицательны
е

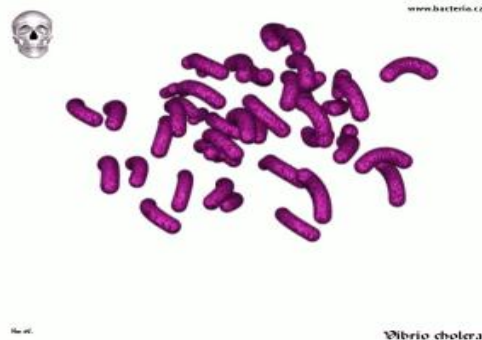
Firmicutes
Грам-
положительны
е

Tenerecutes
Микоплазма

**Без клеточной
стенки
(Mendosicutes)**

Общая характеристика бактерий

- ✓ *Бактерии (греч. bacteria - палочка) одноклеточные, не видимые невооруженным глазом микроорганизмы*
- ✓ *Прокариоты*
- ✓ *Седиментация рибосом 70S*
- ✓ *Не имеют ядерной мембраны и ядрышка*
- ✓ *Имеют одну хромосому*
- ✓ *Митохондрии, лизосомы, аппарат Гольджи, эндоплазматический ретикулум **отсутствуют***
- ✓ *В цитоплазматической мембране отсутствуют стеролы (за исключением микоплазм)*



Размеры бактерий

- **Длина бактерий**- варьирует от 1,5-3мкм (у микоплазмы 0,1-0,2мкм) до 10-15мкм (у возбудителя газовой гангрены 4-8 мкм).
- **Диаметр** - 0,6-0,8 мкм
- **Толщина**- 0,1- 2,5 мкм

$$1 \text{ мкм} = 10^{-6} \text{ м} = 10^{-3} \text{ мм}$$

$$1 \text{ нм} = 10^{-9} \text{ м} = 10^{-6} \text{ мм}$$

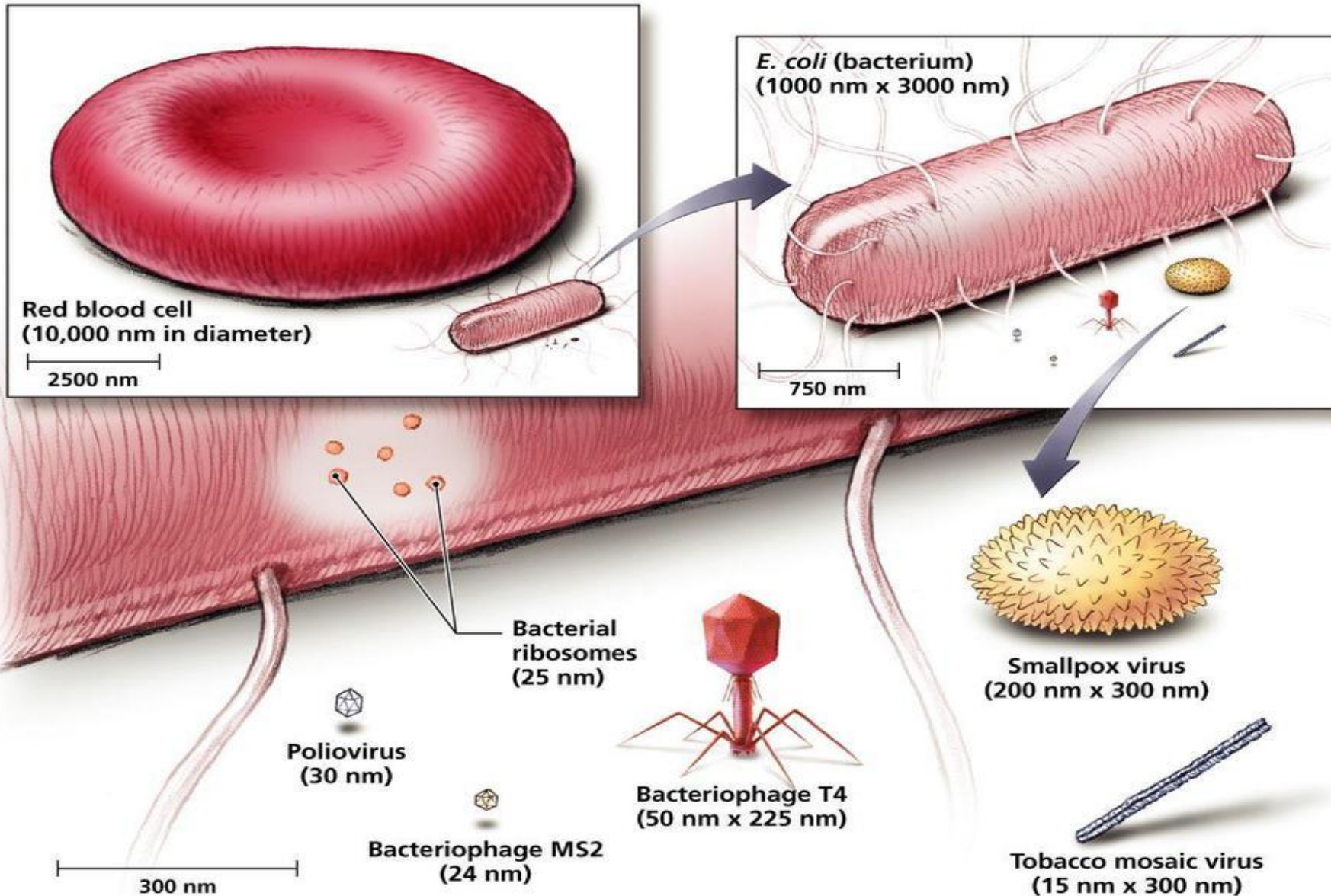
$$1000 \text{ нм} = 1 \text{ мкм}$$

$$0.001 \text{ мкм} = 1 \text{ нм}$$



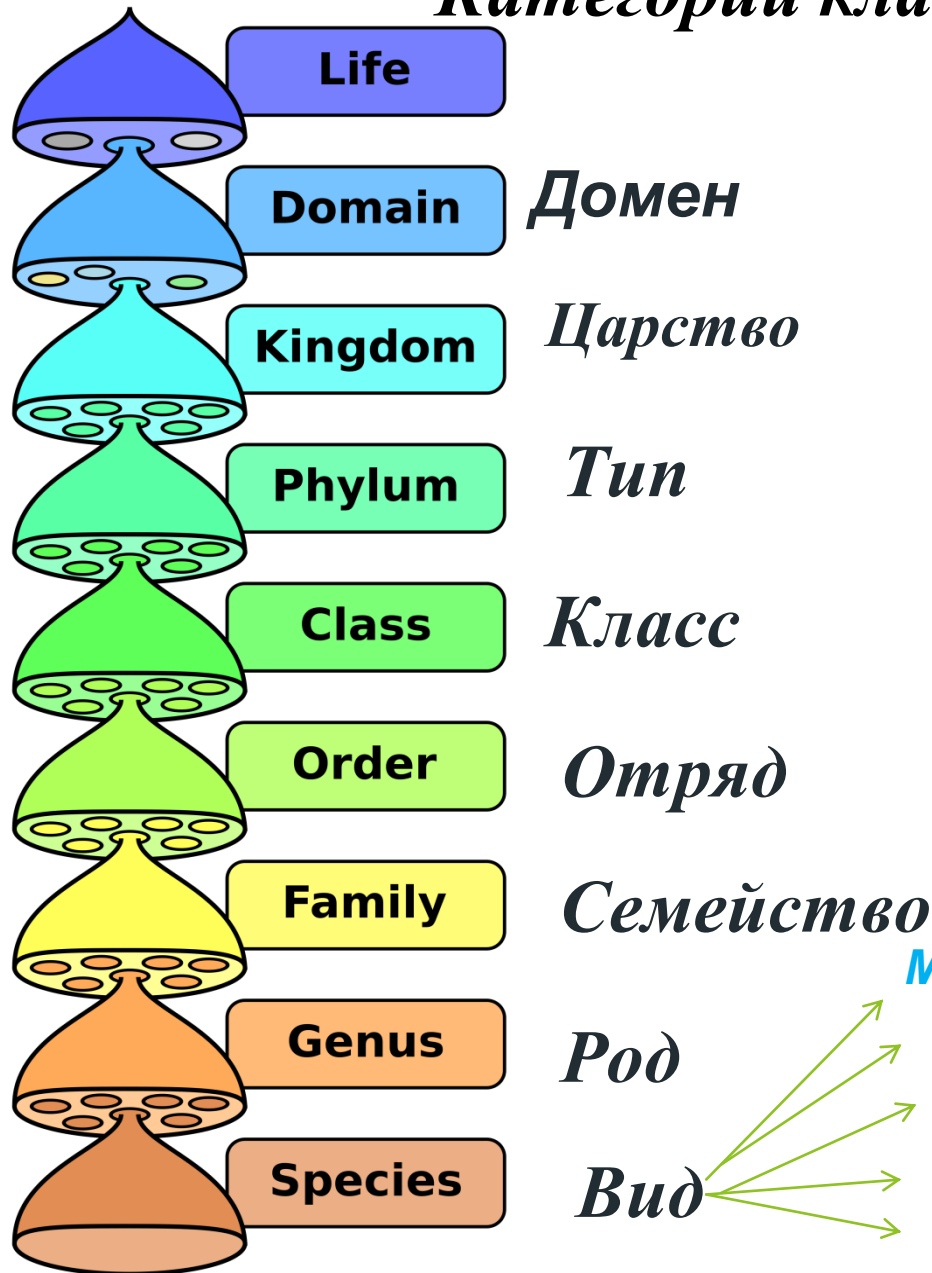
Shigella dysenteriae

Размеры бактерий



Таксономия микроорганизмов

Категории классификации



Каждый микроорганизм в систематике имеет определённую таксономию (греч. taxis-место, ряд).

К таксономии относятся:

- ✦ **Классификация**
- **Идентификация**
- ✦ **Номенклатура**

- Морфовар
- биовар
- серовар
- фаговар
- штамм

ТАКСОНОМИЧЕСКИЕ КАТЕГОРИИ

Царство	Prokaryotae
Тип	Gracilicutes
Класс	Scotobacteria
Порядок	Eubacteriales
Семейство	Enterobacteriaceae
Род	Escherichia
Вид	coli
Подвид	Escherichia coli O157:H7

Считается, что для таксонов высокого ранга больше подходит название не «Отдел», а «Тип» (Phylum).

Номенклатура микроорганизмов

- *Применяется номенклатура микроорганизмов, созданная К.Линнеем для обозначения их названий (кроме вирусов).*
- *В этом случае первое слово обозначает род, оно пишется с заглавной буквы, второе слово означает вид и пишется с маленькой буквы.*

Например, Mycobacterium tuberculosis

Francisella tularensis

Staphylococcus aureus *и др.*

➤ **Вид** – это микроорганизмы, имеющие общее происхождение и похожие морфо-биологические свойства.

➤ **Штамм** – это чистая культура одного вида микроорганизмов, полученных из различных (или одного) источников в разное время.

➤ **Клон** – культура, выращенная из одной микробной клетки.

➤ **Колония** – это скопление (популяция), образуемая бактериями на твёрдых питательных средах.

➤ **Чистая культура микроба** – имеется ввиду популяция, образованная одним видом микроорганизма на плотной питательной среде.

Внутривидовые варианты

➤ *морфовар* – вариант, отличающийся от основного вида по морфологическим свойствам.

➤ *биовар* – отличие по нескольким биологическим свойствам

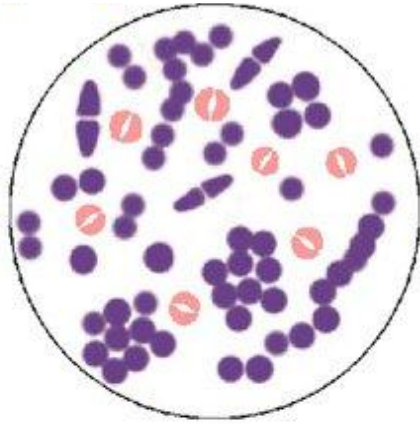
➤ *серовар* – отличие по антигенной структуре

➤ *фаговар* – по чувствительности к определённому фагу

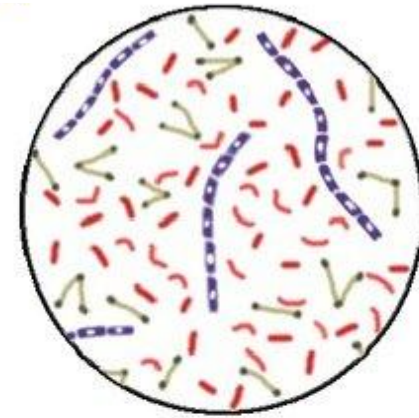
➤ *хемовар* – отличие по биохимическим свойствам

➤ *резистовар* – отличие по чувствительности к антимикробным препаратам

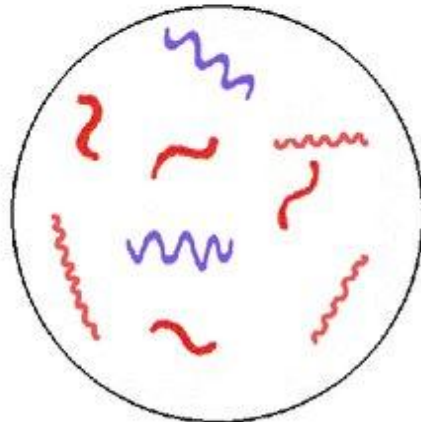
Морфология бактерий



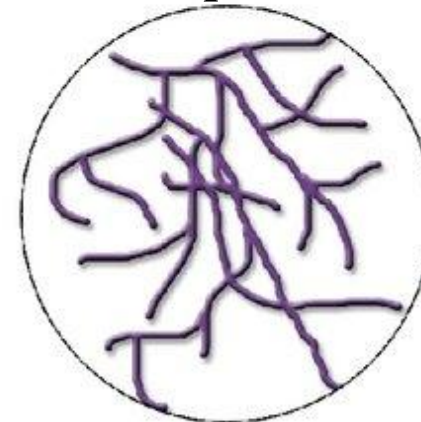
КОККИ



***Палочковидные
бактерии***

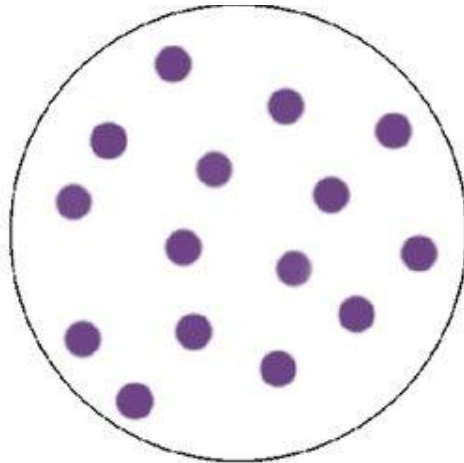


***Спиральные
бактерии***

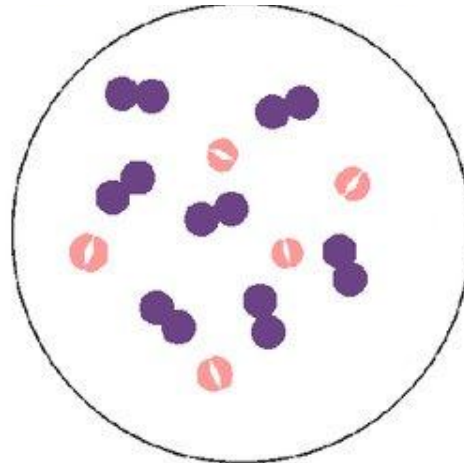


Нитевидные бактерии

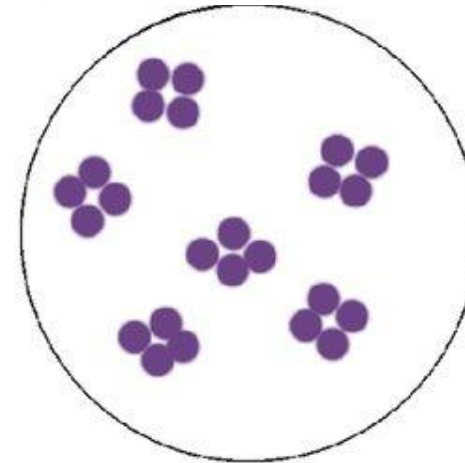
Сферические бактерии или кокки (0,5-1,5 мкм)



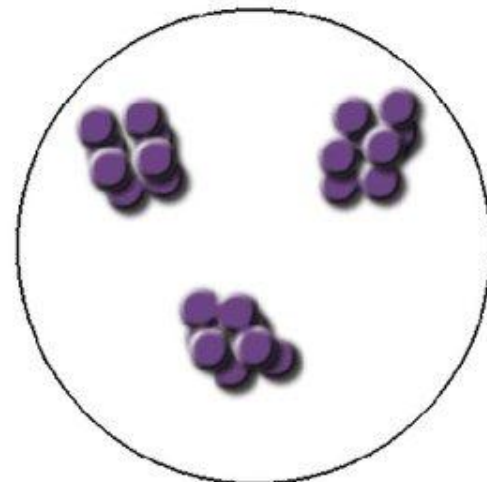
Micrococcus



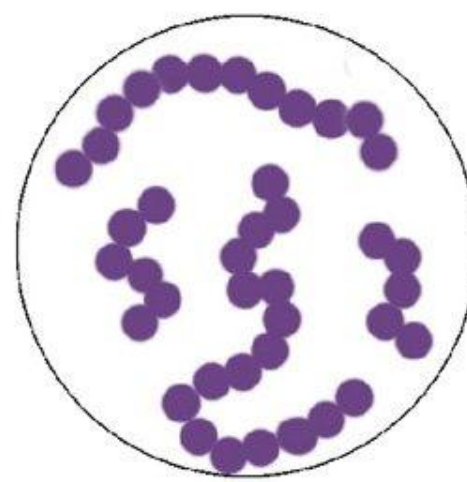
Diplococcus



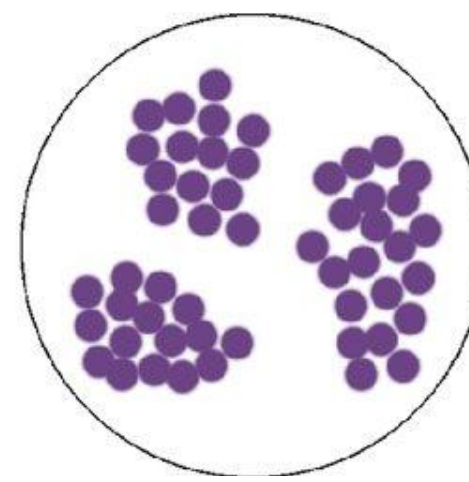
Tetrads



Sarcina



Streptococcus



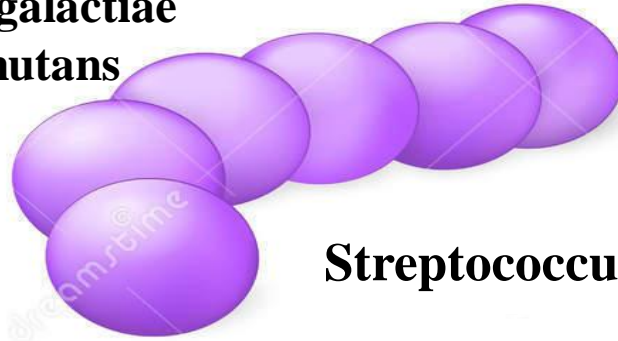
Staphylococcus

KOKKI



Micrococcus

**S.pyogenes
S.agalactiae
S.mutans**



Streptococcus



Diplococcus

**N.meningitidis
N.gonorrhoeae
S.pneumonia**



Sarcina



Tetracoccus



**Staphylococcus aureus
S.epidermidis,
S.saprophyticus**



Кокки

Микрококки (греч. *micros* – **мелкий**) - делятся поперечно, располагаются раздельно

Диплококки (греч. *diplos* – **вместе**) - делятся поперечно, располагаются парами

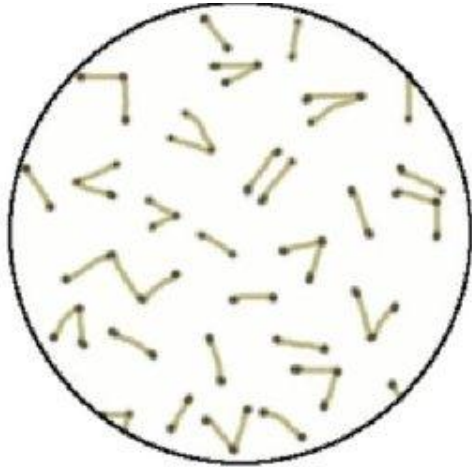
Стрептококки (греч. *Streptos* – **цепочка**) - делятся поперечно, располагаются в виде цепочек

Тетракокки (греч. *tetra* – **четыре**) - делятся перпендикулярно в двух плоскостях и располагаются по четыре

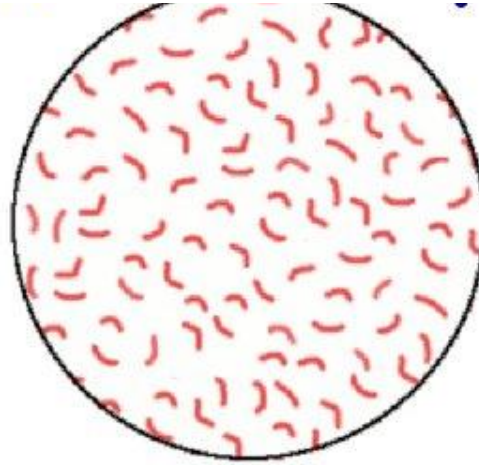
Сарцины (лат. *sarsina* – **сноп**) - делятся перпендикулярно в трёх плоскостях и располагаются в виде снопов

Стафилококки (греч. *staphyle*- **гроздь винограда**)- делятся перпендикулярно в двух плоскостях и располагаются в виде гроздей винограда

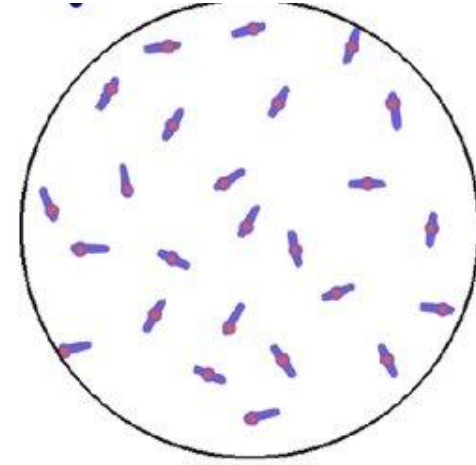
Палочковидные бактерии (0,3-10 мкм)



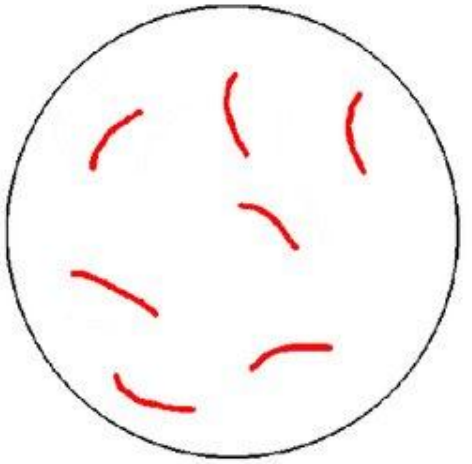
коринебактерии



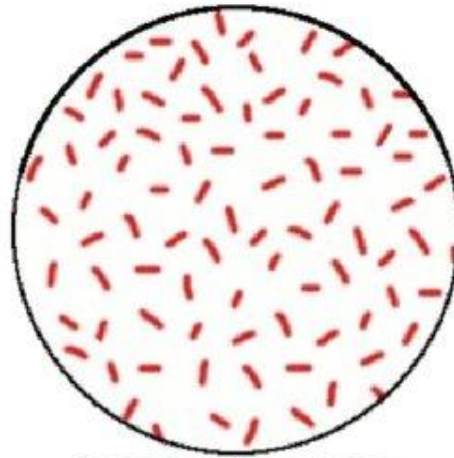
вибрионы



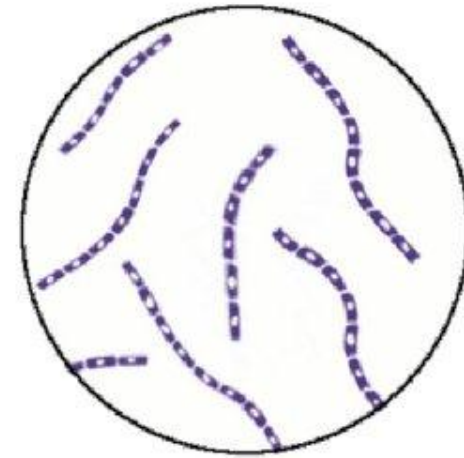
кlostридии



микобактерии



эшерихии



стрептобациллы

Палочковидные бактерии

1. эшерихии

2. клебсиеллы

3. бруцеллы

4. бациллы

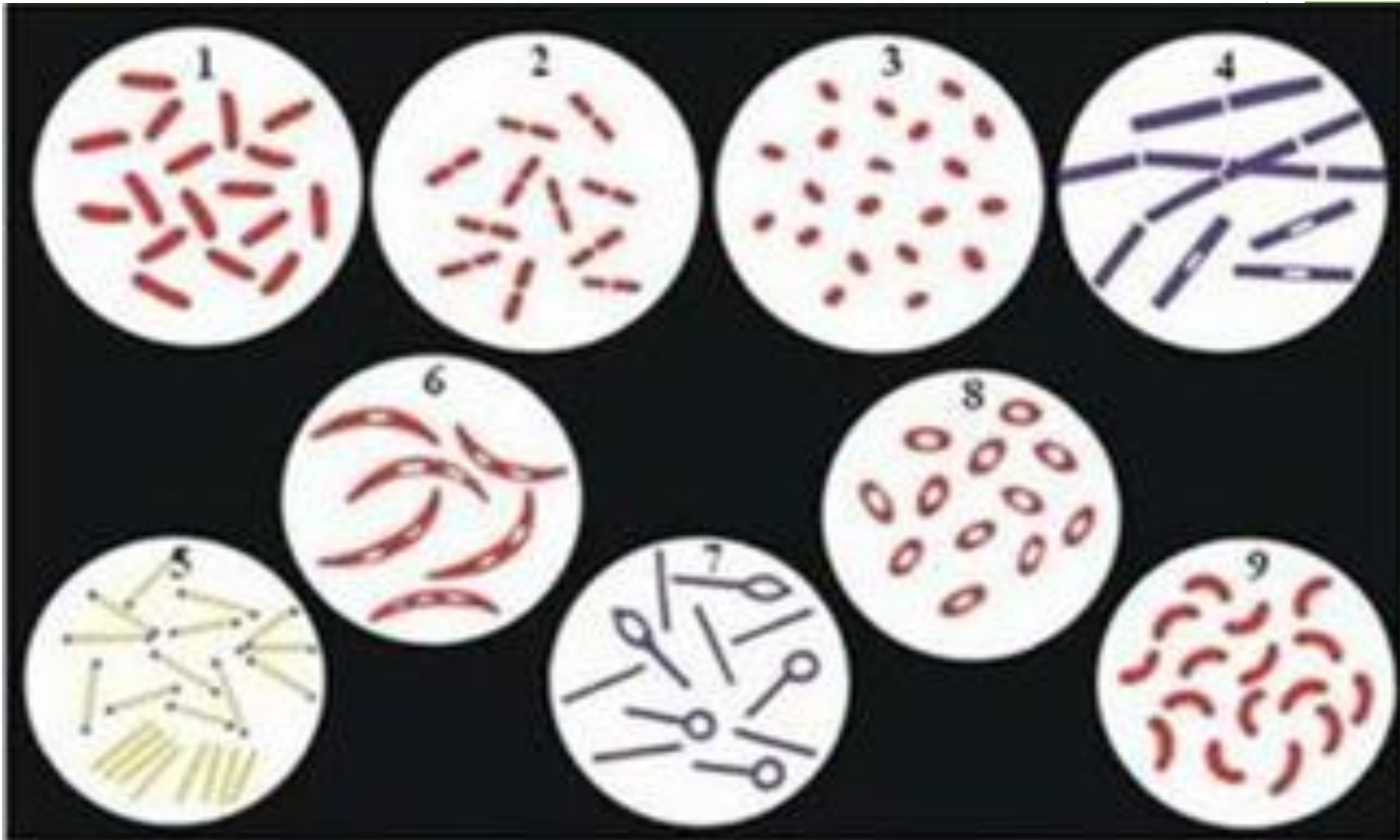
5. коринебактерии

6. фузобактерии

7. клостридии

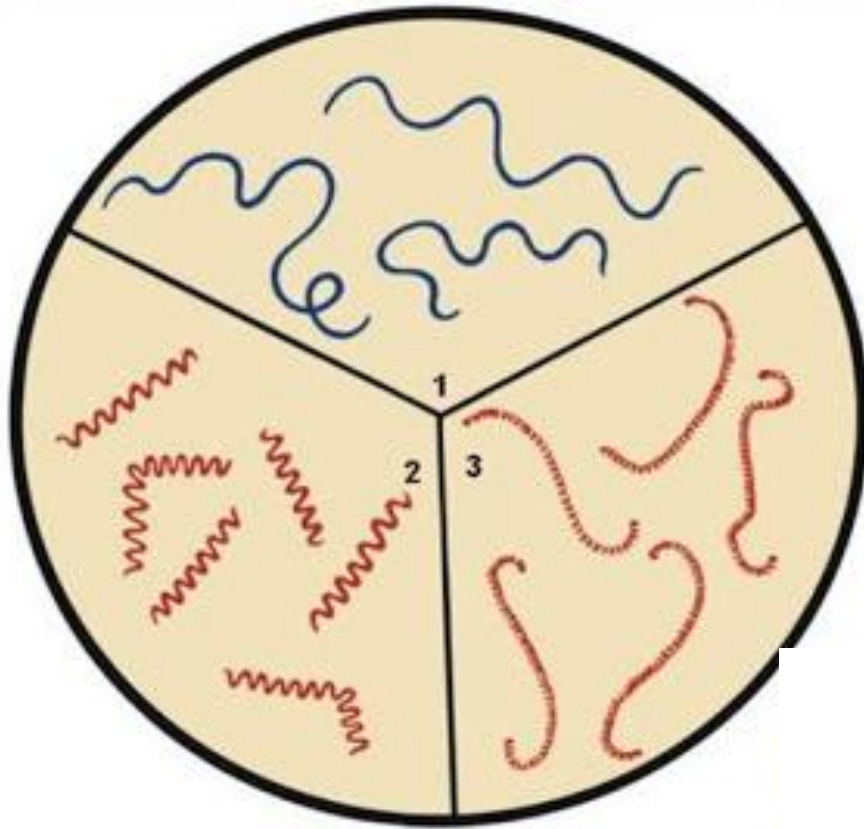
8. иерсинии

9. вибрионы



Спиралевидные бактерии (<20 мкм)

- *Спириллы*
- *Спирохеты*



1. *Боррелии*
2. *Трепонемы*
3. *Лептоспиры*



кампилобактерии

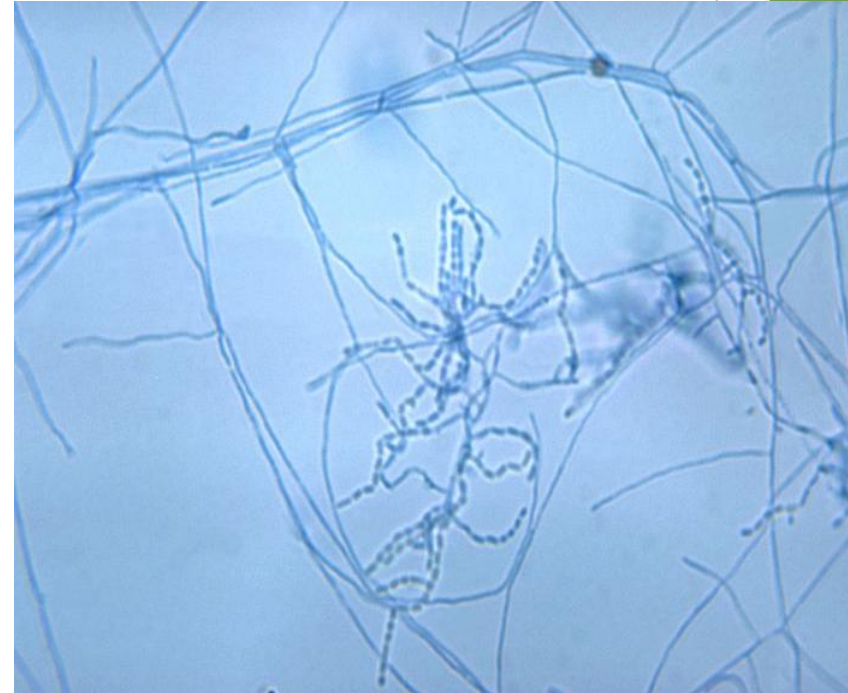


Helicobacter pylori

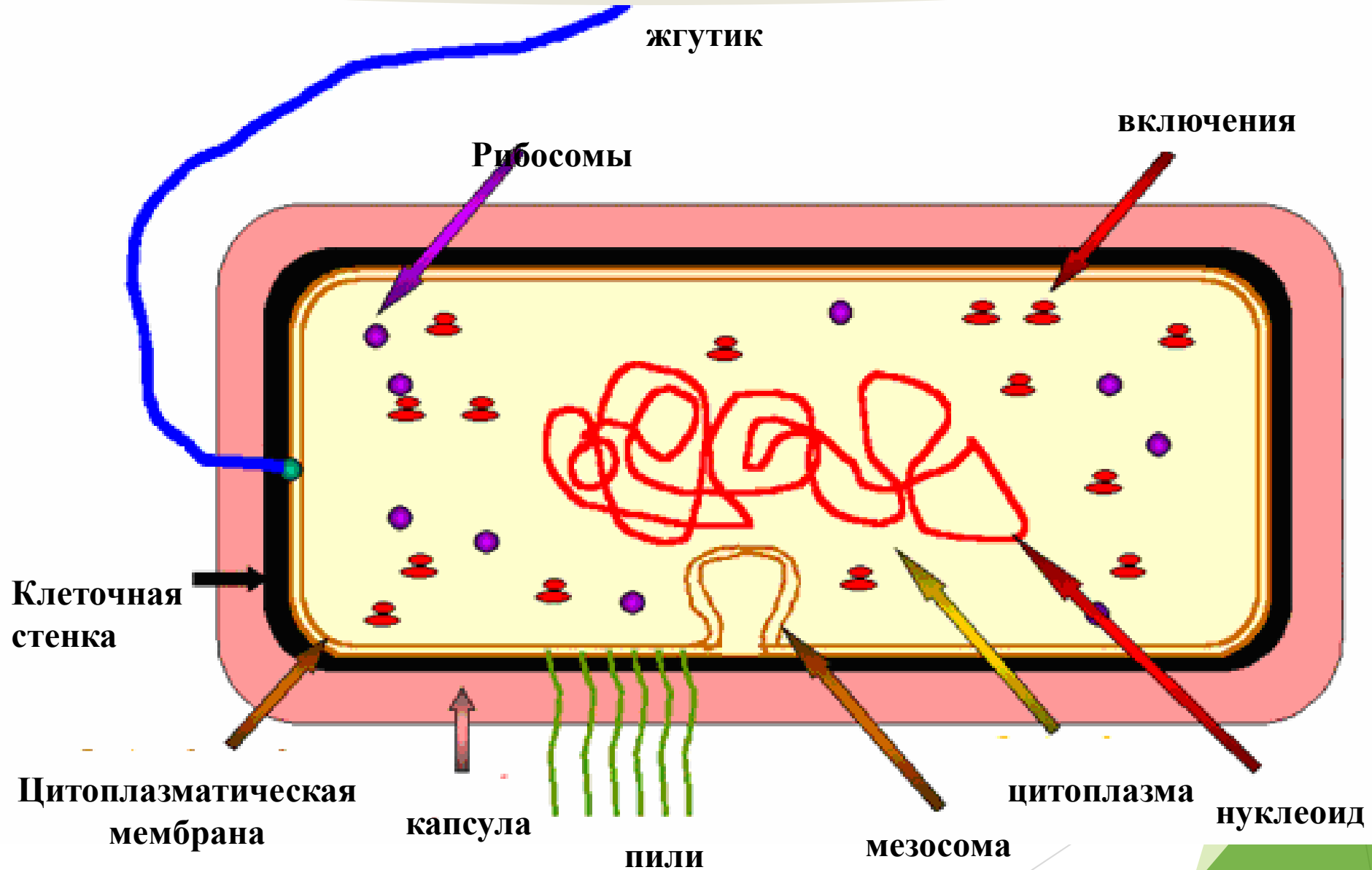
Нитевидные бактерии(10-50 мкм)



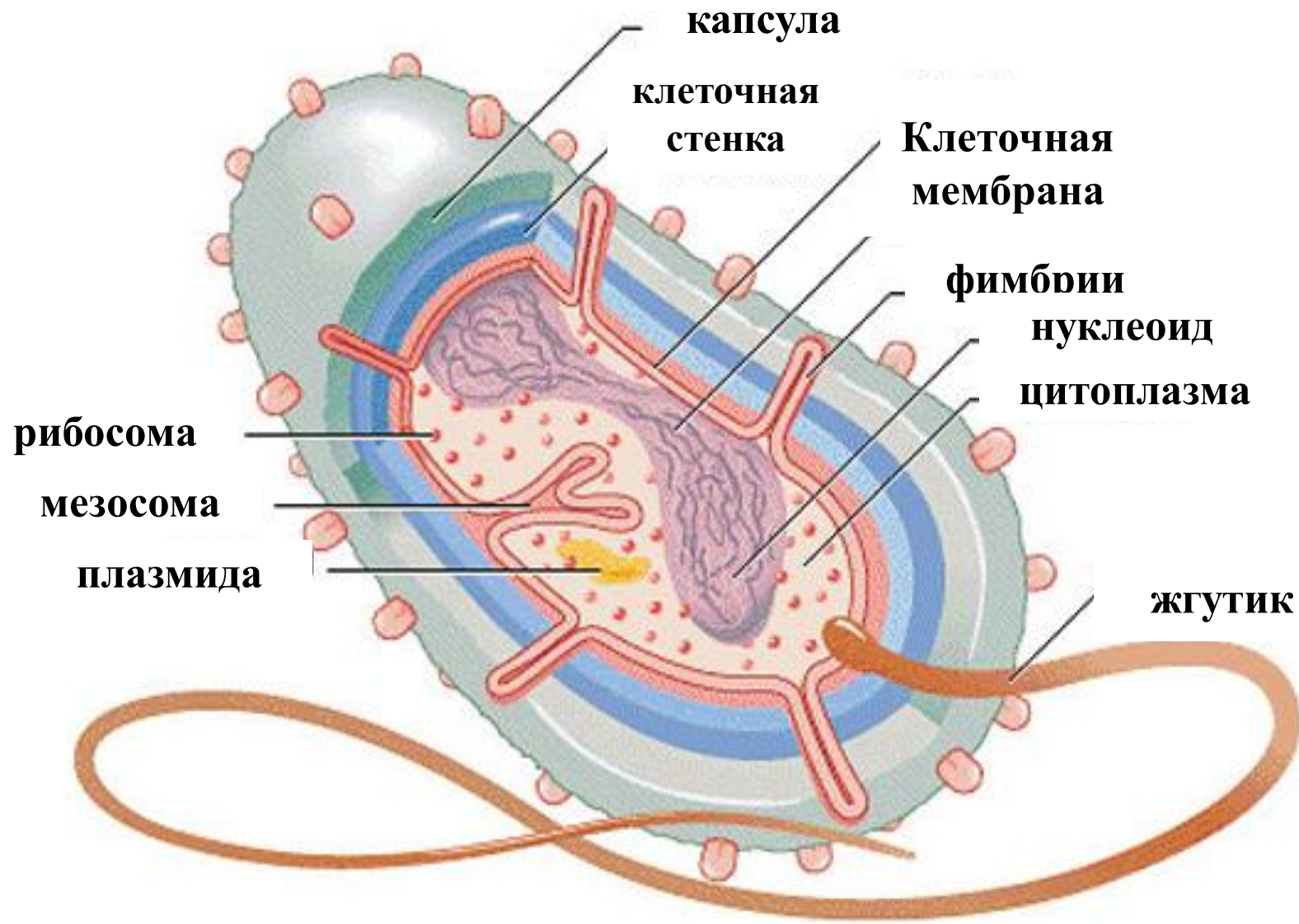
Актиномицеты



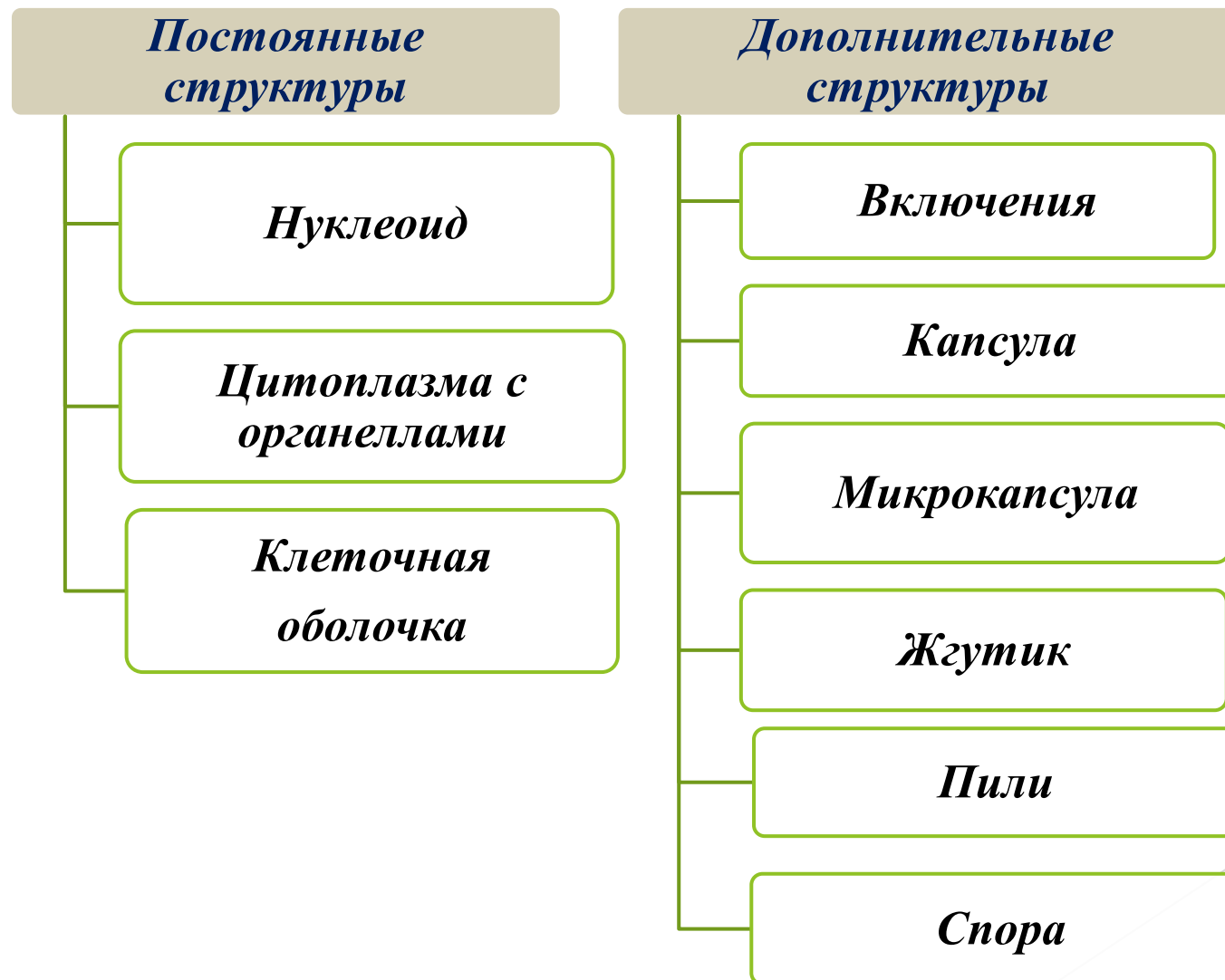
Ультраструктура бактериальной клетки



Строение бактериальной клетки



Строение бактериальной клетки



Нуклеоид



У бактерий отсутствуют ядро, ядерная мембрана, ядрышко и гистоны

Располагается в цитоплазме, состоит из 10 млн н.п.

Обычно в клетке содержится одна гаплоидная хромосома, представленная замкнутой в кольцо двунитовой ДНК

*у *Borrelia burgdorferi* ДНК линейная*

Помимо хромосомы имеются внехромосомные факторы наследственности - плазмиды

Выявляют нуклеоид по методу Фёльгена и Гимзы

Цитоплазма и внутрицитоплазматические включения

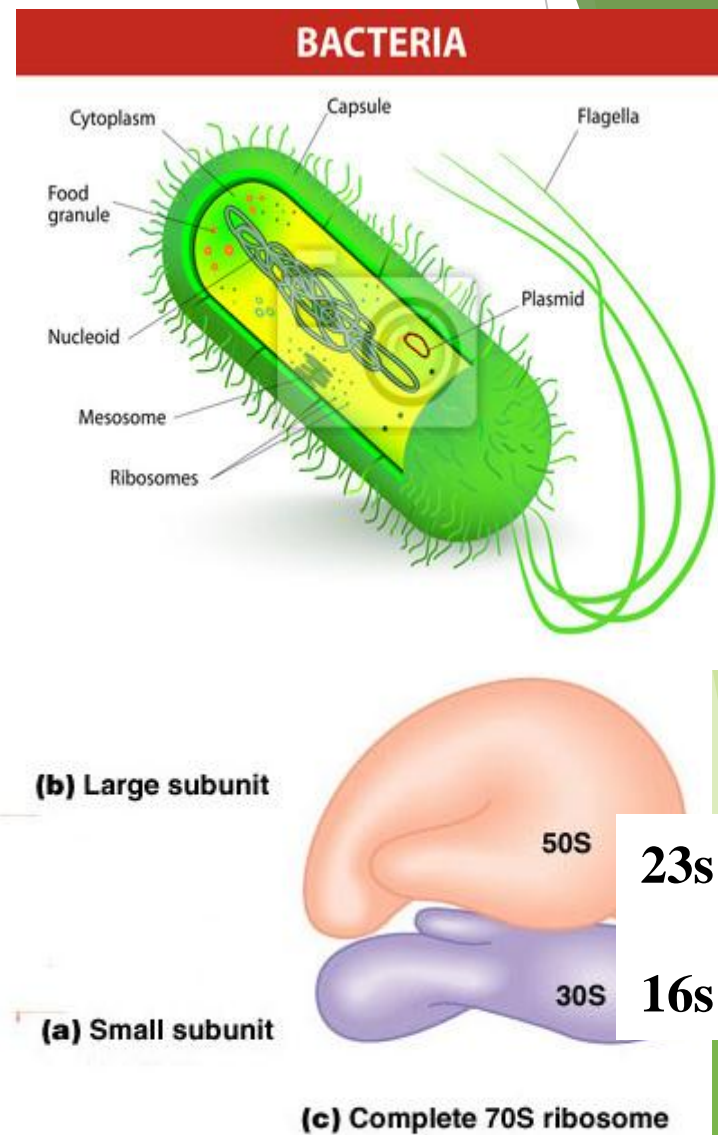
➤ **Цитоплазма** коллоидный матрикс, содержит растворимые белки, включения и рибосомы (РНК)

➤ **Рибосомы** бактерий имеют размер около 20 нм, коэффициент седиментации 70S (50S и 30S – единица Сведберга)

➤ 23S-рРНК входит в состав 50S

➤ 16S-рРНК входит в состав 30S

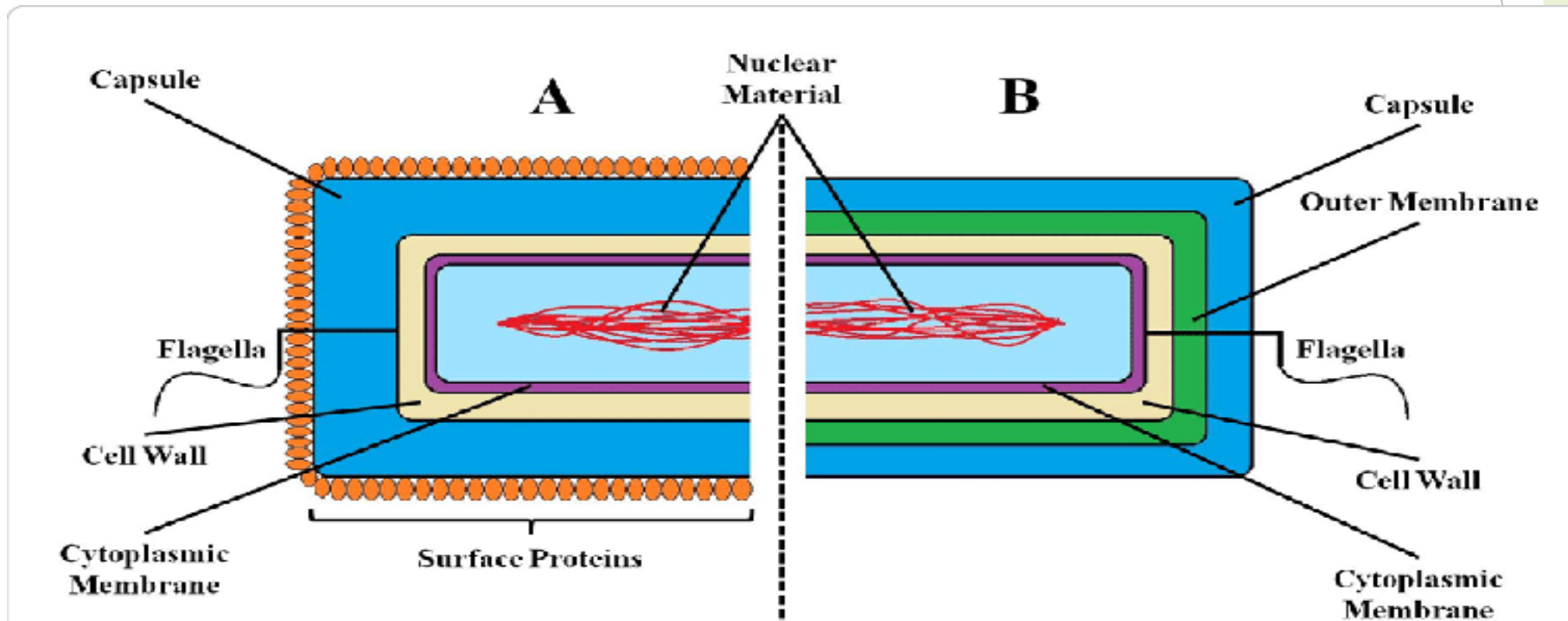
➤ В качестве запасных питательных веществ и источника энергии в цитоплазме накапливаются различные включения (гранулы гликогена, полисахариды, липиды и полифосфаты)



Оболочка бактериальной клетки

Оболочка бактериальной клетки включает:

- ❖ Цитоплазматическую мембрану
- ❖ Клеточную стенку
- ❖ Слизистый слой- капсула, микрокапсула, гликокаликс

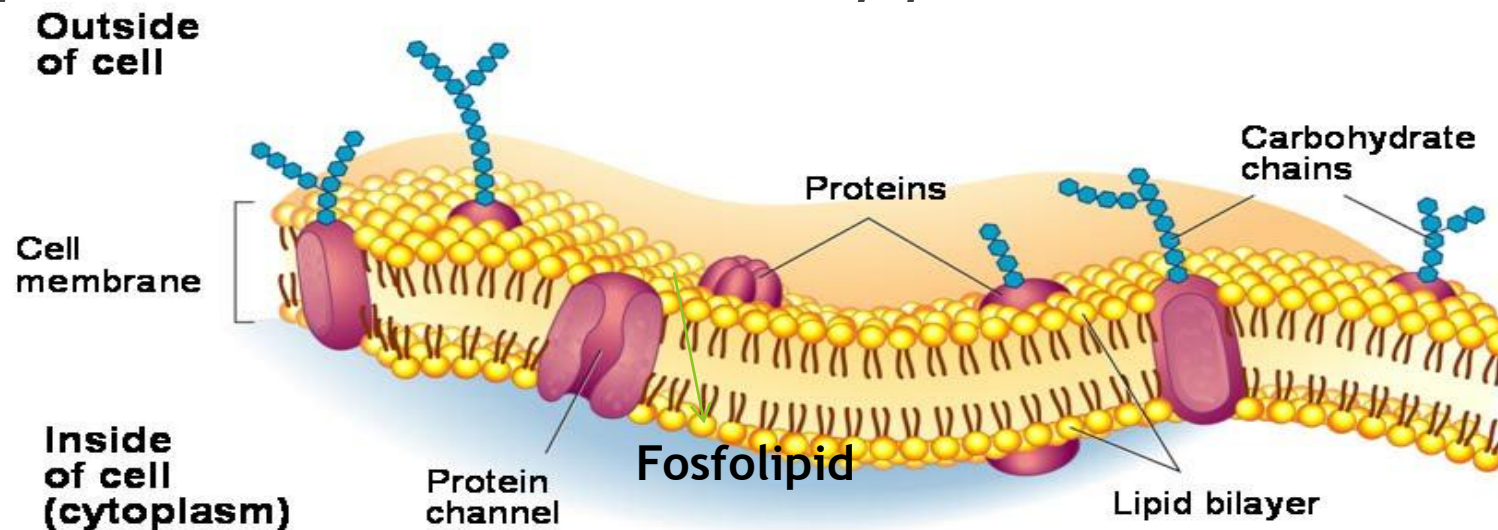


Функции цитоплазматической мембраны

- ✓Регуляция осмотического давления*
- ✓Трансмембранные белки участвуют в передаче сигналов, липидные слои обуславливают биологические свойства.*
- ✓Обладает избирательной проницаемостью.*
- ✓Обуславливает перенос веществ посредством активного транспорта*
- ✓Использует для дыхания систему транспорта электронов.*
- ✓Участвует в переносе биосинтетических и гидролитических ферментов, транспортных и сигнальных белков.*
- ✓Имеет специфические участки для связывания с хромосомой и плазмидами.*
- ✓Внутренние слои ЦПМ содержат актиноподобные белковые волокна, определяющие морфологию бактерий. Эти волокна обеспечивают спиралевидную форму трепонем.*

Цитоплазматическая мембрана

- ▶ Не содержит стеролов (за исключением микоплазм)
- ▶ Состоит из билипидного слоя (фосфолипиды) и встроенных мембранных белков
- ▶ Основная функция - энергетический синтез и транспорт электронов
- ▶ Содержит транспептидазу (пенициллинсвязывающий белок)
- ▶ **мезосомы** → впячивания мембраны внутрь цитоплазмы
(у грамположительных бактерий выполняют функцию митохондрий)
- ▶ центральная мезосома → репликация ДНК
- ▶ латеральная мезосома → синтез белков-ферментов



Клеточная стенка

*Защитный слой окружающий
цитоплазматическую мембрану*

- Придает форму бактериальной клетке*
- Выполняет барьерную функцию*
- Предохраняет клетку от осмотического лизиса*
- Обеспечивает взаимодействие с клеткой хозяина*
- Обнаруживается по методу Грама*
- Играет роль в патогенезе бактериальных инфекций*

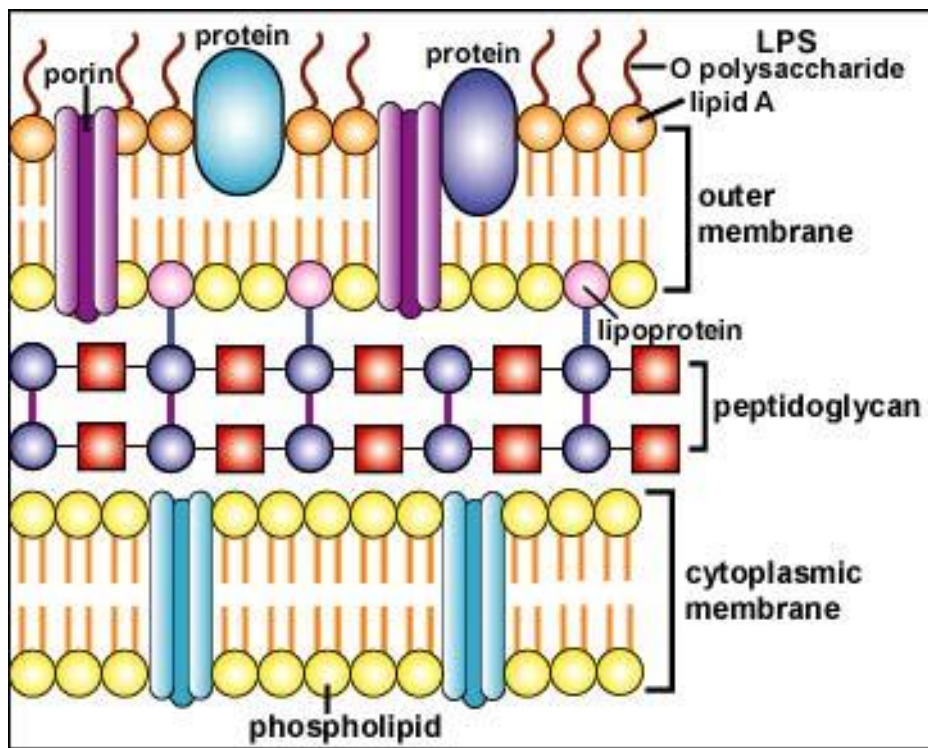
Клеточная стенка

- ▶ *Клеточная стенка* бактерий имеет толщину 15-20 нм и составляет 20-30% сухого остатка
- ▶ Клеточная стенка – прочная структура, придающая бактерии определенную форму, имеет сложное строение и состоит из нескольких слоев
- ▶ Различное отношение к окраске по методу Грама , и подразделение бактерий на две группы - **грамположительные** и **грамотрицательные** основывается на различие в строении их клеточной стенки

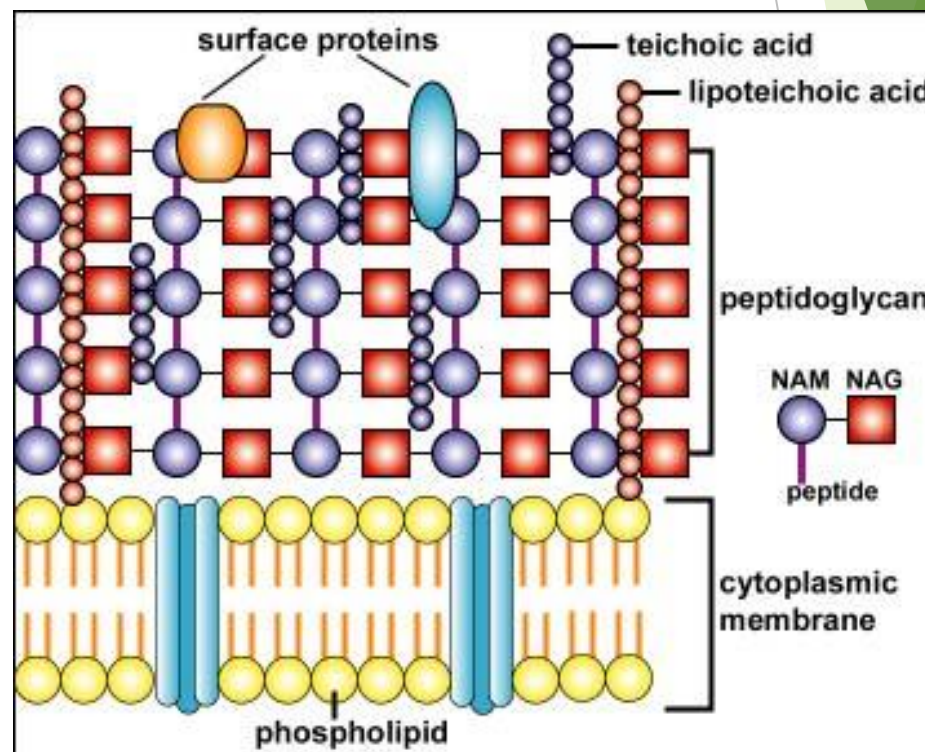
Отличия клеточной стенки грамположительных и грамотрицательных бактерий

- ▶ *Грамположительные бактерии имеют более толстую клеточную стенку толщиной 50 нм и более, 40-80% ее составляет пептидогликан.*
- ▶ *Грамотрицательные бактерии имеют более тонкую клеточную стенку, толщиной 15-20 нм, пептидогликан составляет 5-10% массы клеточной стенки*

**Схема строения
клеточной стенки
грамотрицательных
бактерий**



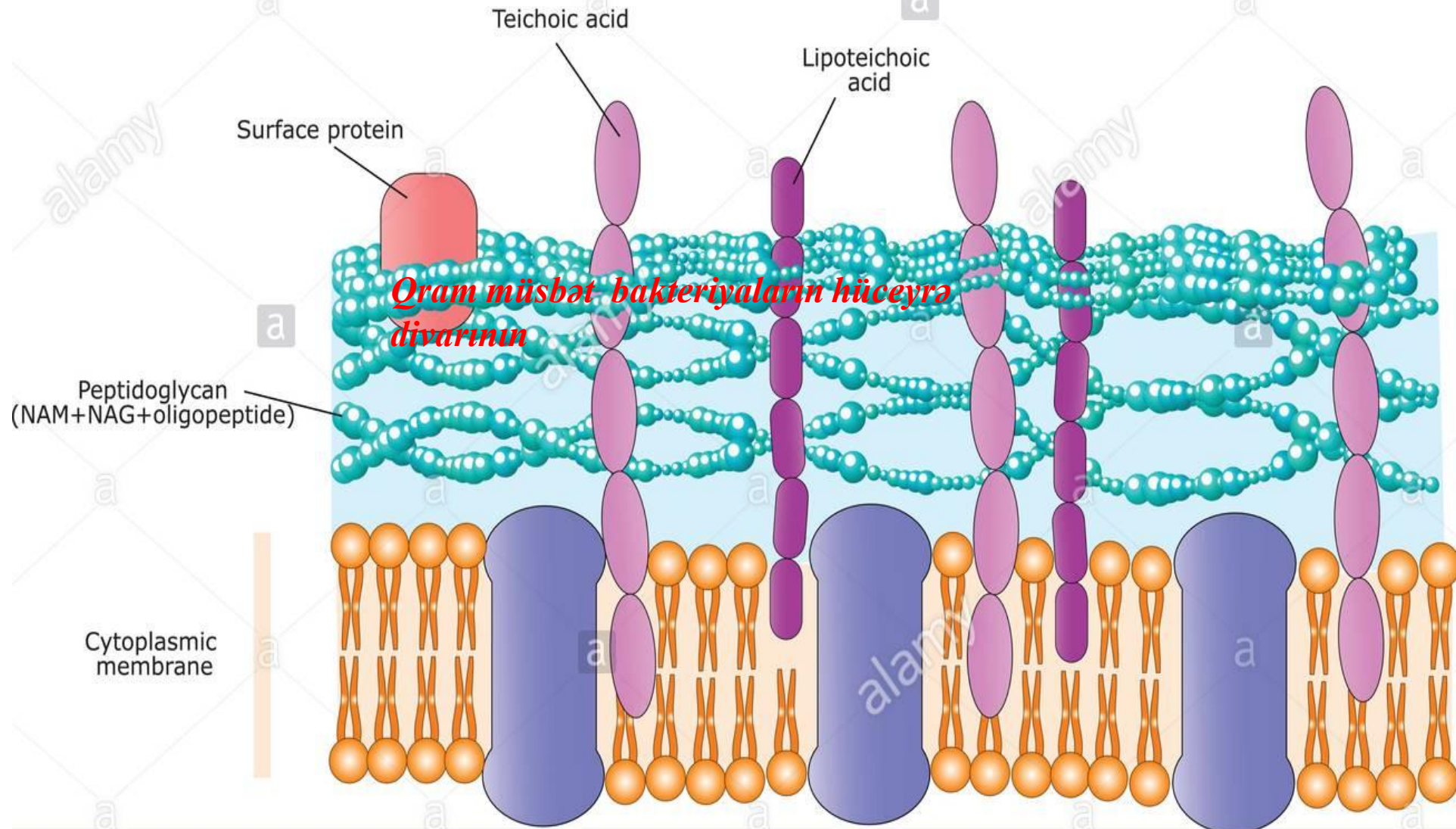
**Схема строения
клеточной стенки
грамположительных
бактерий**



Отличия клеточной стенки грамположительных и грамотрицательных бактерий

<i>Особенности</i>	<i>Грам+</i>	<i>Грам-</i>
<i>Толщина</i>	<i>20-80 нм</i>	<i>10 нм</i>
<i>Содержание пептидогликана</i>	<i>>50%</i>	<i>10 -20 %</i>
<i>Тейхоевые кислоты</i>	<i>+</i>	<i>-</i>
<i>Липиды и липопротеины</i>	<i>0-3%</i>	<i>58%</i>
<i>Белки</i>	<i>0%</i>	<i>9%</i>
<i>Липополисахарид</i>	<i>0%</i>	<i>13%</i>
<i>Чувствительность к пенициллину</i>	<i>+</i>	<i>-</i>
<i>Чувствительность к лизоциму</i>	<i>+</i>	<i>-</i>

Клеточная стенка грамположительных бактерий



Строение клеточной стенки грамположительных бактерий

✓С пептидогликаном клеточной стенки ковалентно связаны **тейхоевые кислоты** (от греч. *teichos*-стенка).

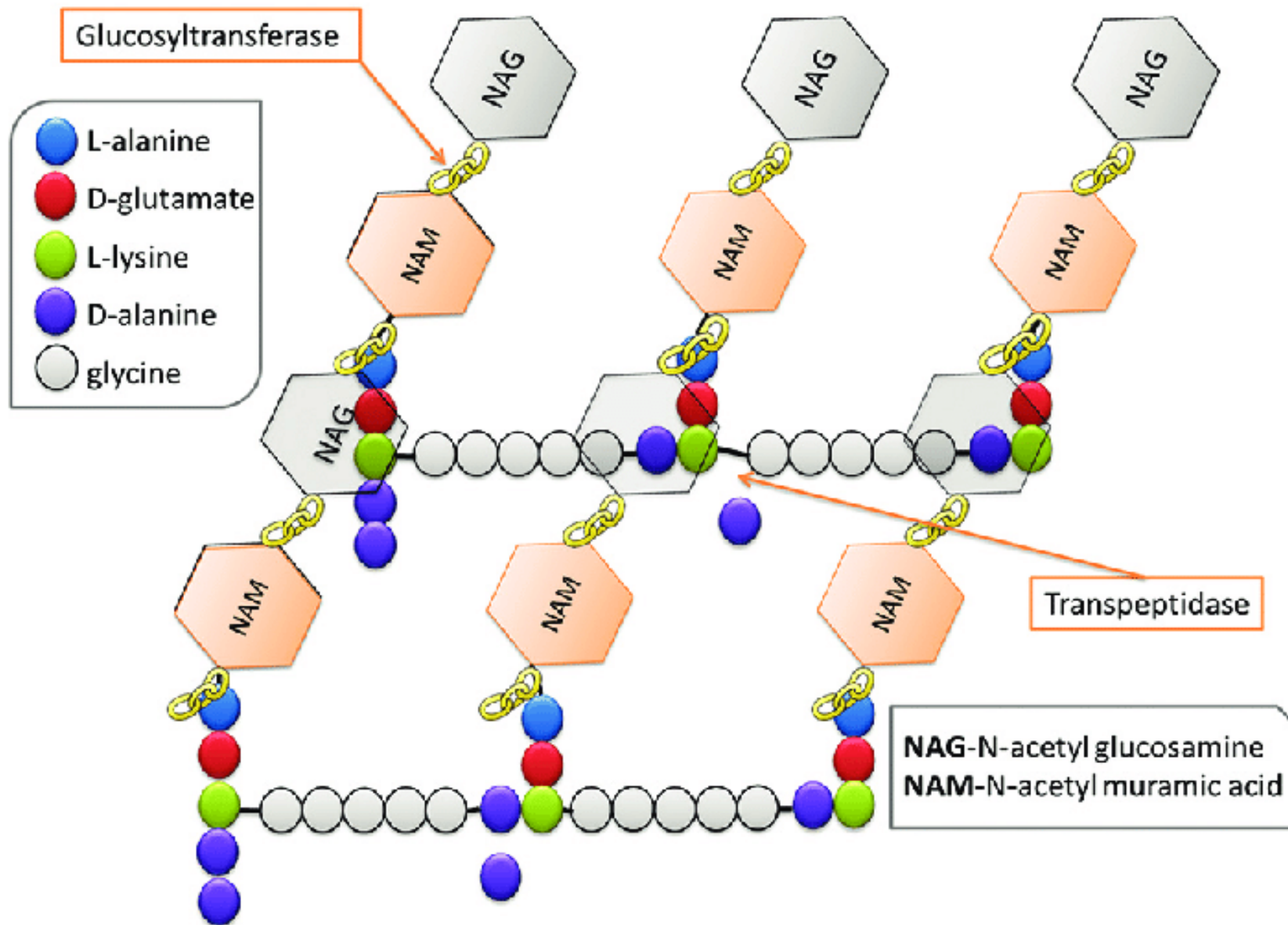
✓Молекулы тейхоевых кислот являются полимерами **глицеролфосфата и рибитолфосфата**.

✓Тейхоевые кислоты растворимы в воде.

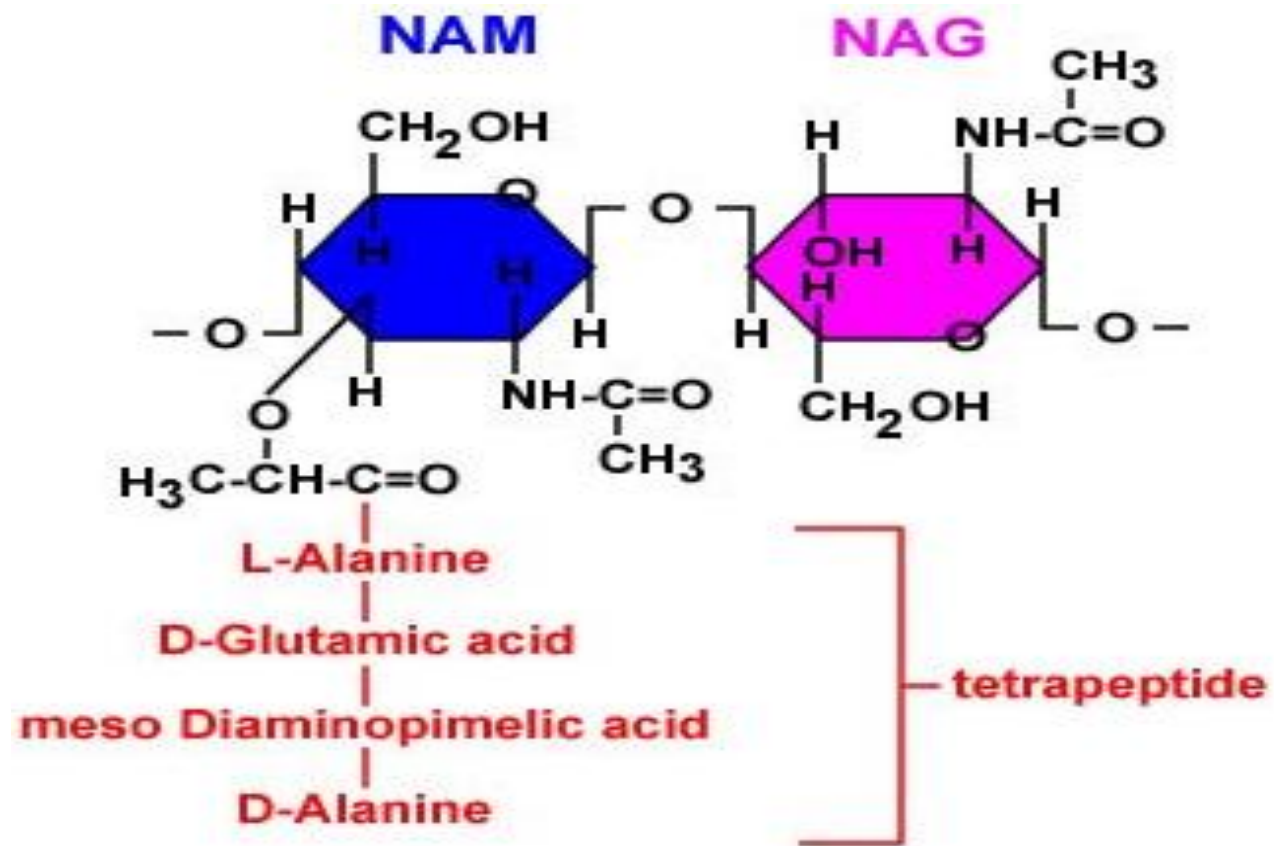
✓Тейхоевые кислоты участвуют в делении клетки, в регуляции синтеза и распада клеточной стенки, в адгезии на клетках организма.

✓Являются фактором патогенности.

Структура пептидогликана

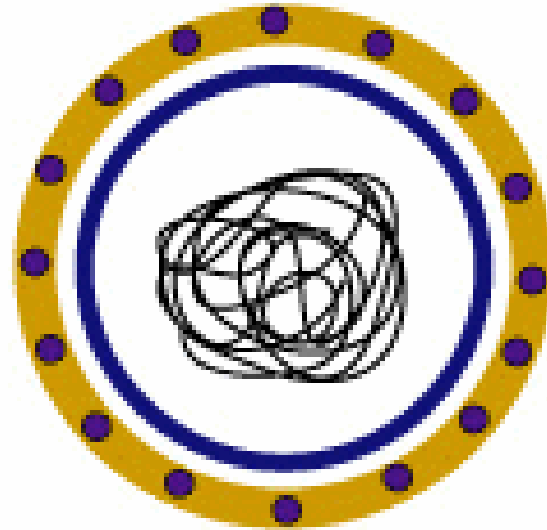


Структура пептидогликана



Биологическая активность пептидогликана

DEATH OF GRAM-POSITIVE BACTERIUM
AND RELEASE OF PEPTIDOGLYCAN AND
TEICHOIC ACIDS



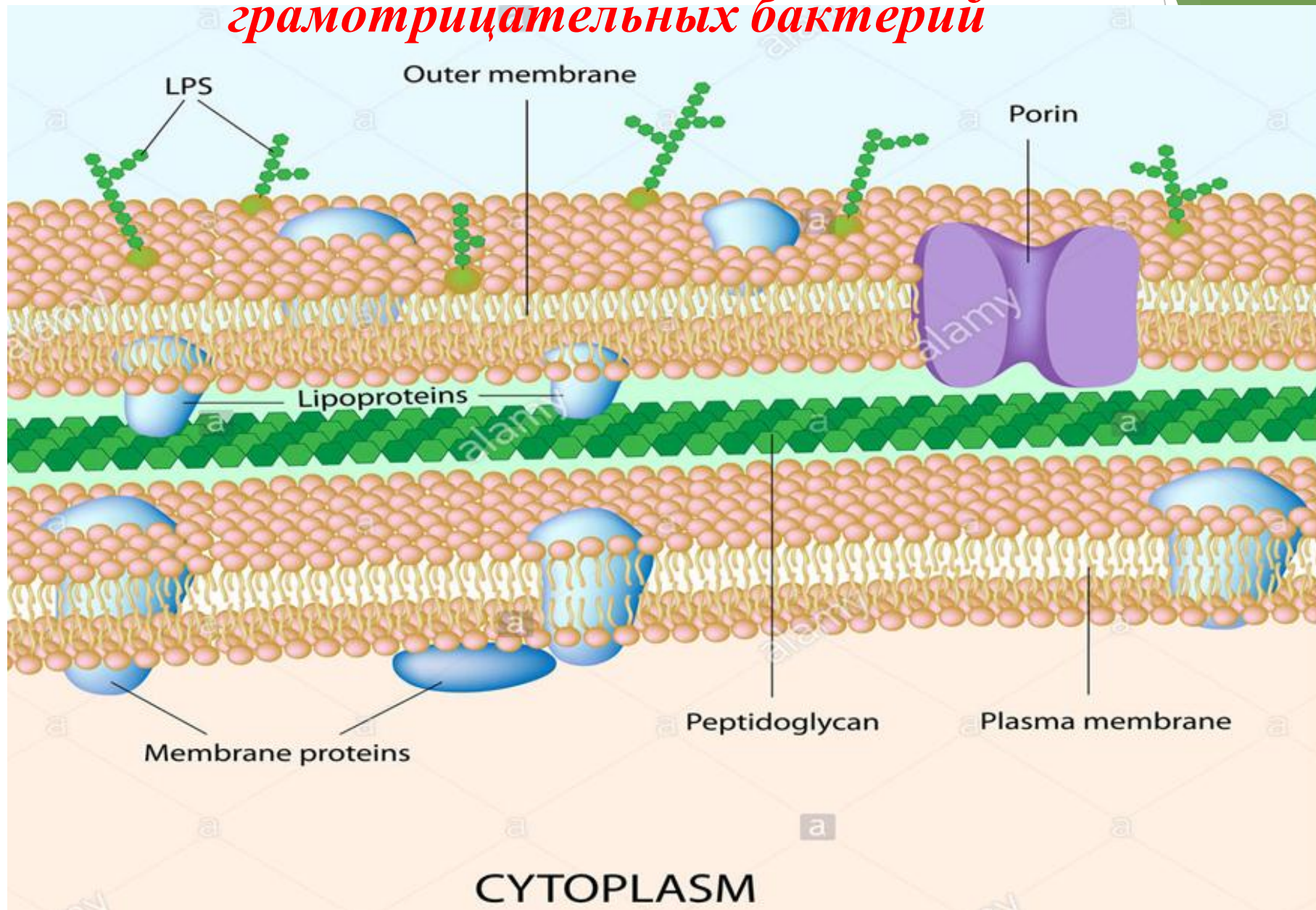
Клеточная стенка грамотрицательных бактерий

- Внешний слой клеточной стенки грам(-) бактерий составляет наружная мембрана.*
- Наружная мембрана содержит фосфолипиды и ЛПС.*
- Белки (порины) наружной мембраны снижают проницаемость клеточной стенки грамотрицательных бактерий.*
- Между наружной и цитоплазматической мембраной находится периплазматическое пространство.*
- Периплазма (составляет 20-40% клеточной стенки) содержит пептидогликан и белки.*
- В периплазматическом пространстве содержатся адаптивные ферменты и ферменты, участвующие в обменных процессах (н-р, бета-лактамаза и др).*

Клеточная стенка грамотрицательных бактерий

- ▶ В состав клеточной стенки грамотрицательных бактерий входит **наружная мембрана**, связанная посредством **липопротеина** с подлежащим слоем **пептидогликана**. Она состоит из:
- ▶ **Фосфолипидов,**
- ▶ **Липопротеинов,**
- ▶ **Липополисахаридов (ЛПС)**

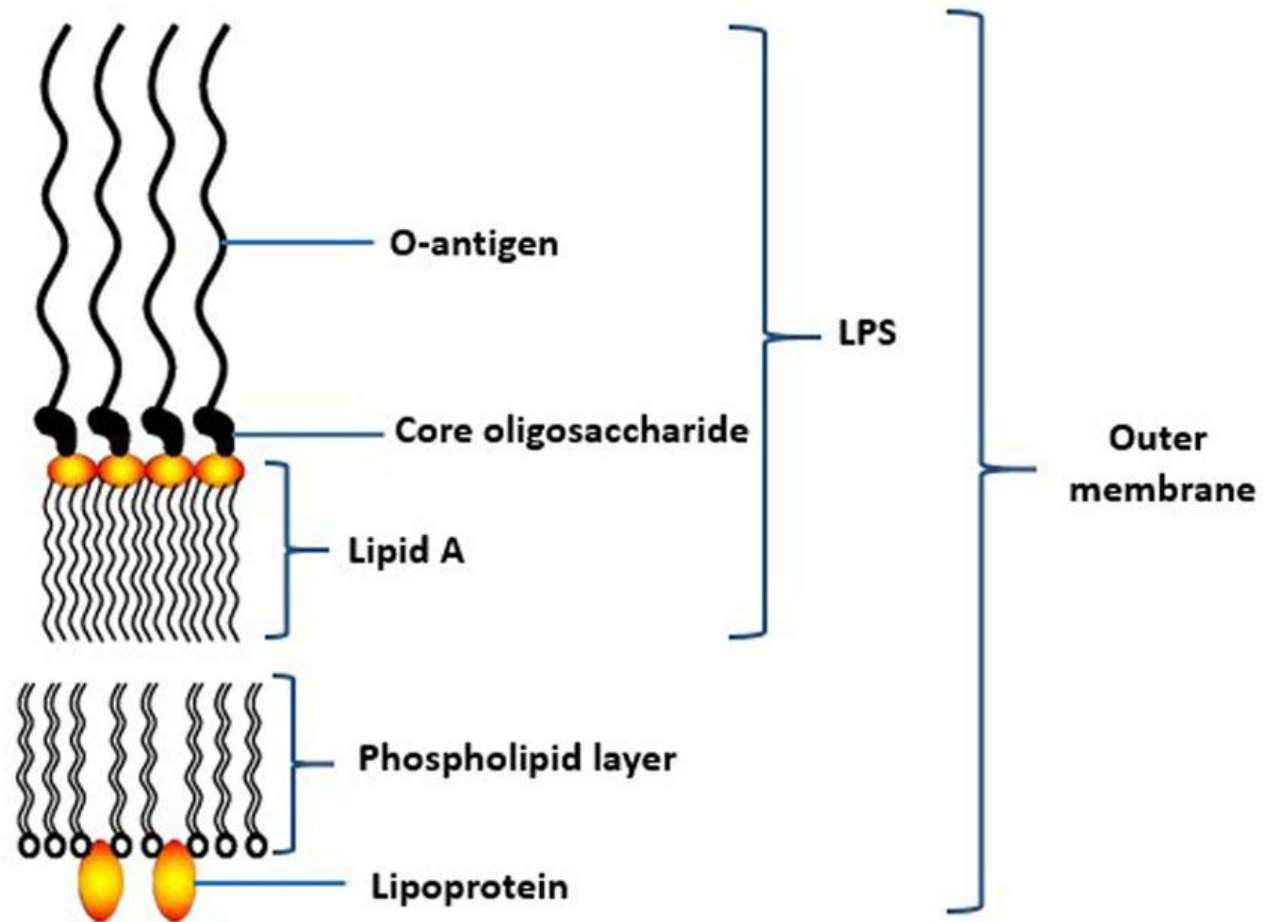
Строение клеточной стенки грамотрицательных бактерий



Наружная мембрана клеточной стенки грамотрицательных бактерий

- ▶ Внутренний слой наружной мембраны представлен фосфолипидами, а в наружном слое расположен липополисахарид .
- ▶ Наружная мембрана грамотрицательных бактерий отличается проницаемостью от других биологических мембран.
- ▶ Благодаря содержанию липидов она характеризуется гидрофобностью.
- ▶ Молекулы белка, называемые поринами, окаймляют гидрофильные поры в наружной мембране, через которые путем пассивной диффузии проходят вода и мелкие гидрофильные молекулы (сахара, аминокислоты и пр.)

Клеточная стенка грамотрицательных бактерий (наружная мембрана)



Клеточная стенка грамотрицательных бактерий (липополисахарид- ЛПС)

- ▶ ЛПС наружной мембраны состоит из трех фрагментов:
- ▶ липида А – консервативной структуры, практически одинаковой у грамотрицательных бактерий; ЛПС «заякорен» в наружной мембране липидом А
- ▶ ядра, или стержневой, коровой части (от лат. *core* – ядро), относительно консервативного олигосахарида;
- ▶ высоковариабельной О-специфической цепи полисахарида, образованной повторяющимися идентичными олигосахаридными последовательностями. О-специфическая цепь обуславливает серогруппу, серовар бактерий (О-антиген)
- ▶ Таким образом полисахаридная часть обуславливает антигенность, липидная часть - обуславливает

Липополисахарид (LPS)

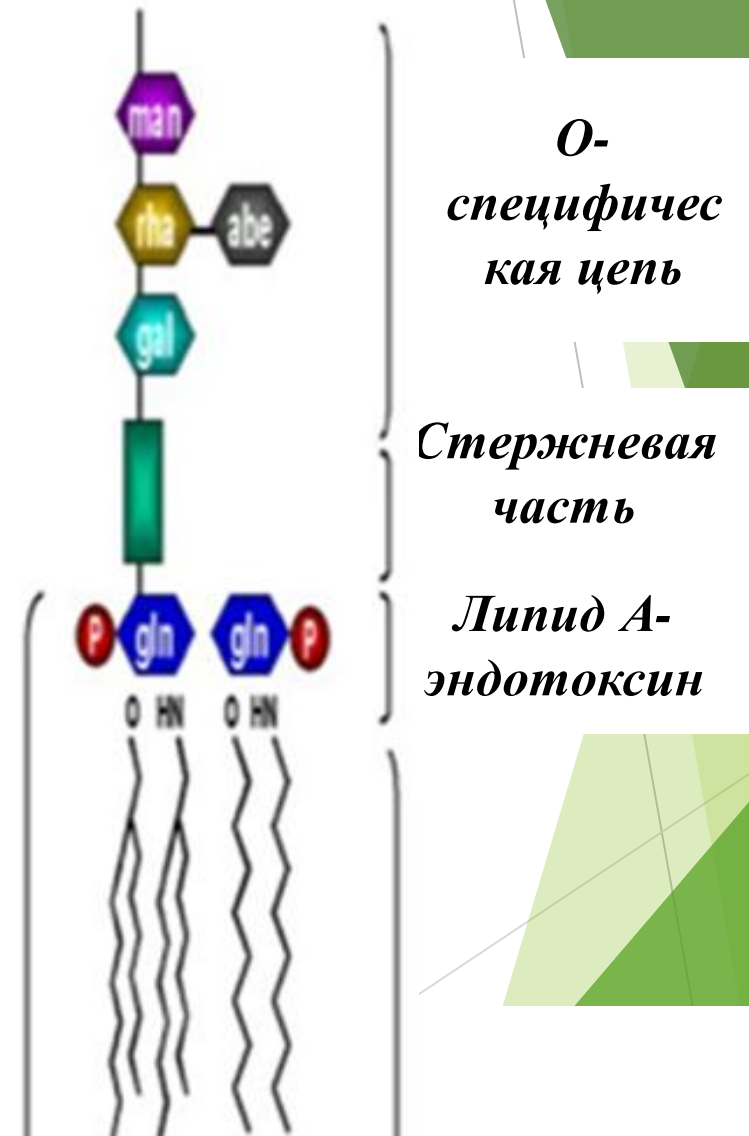
Липид А -гликолипид

- Длинноцепочечные жирные кислоты + дисахарид глюкозамин
- Обуславливает токсичность (эндотоксин)

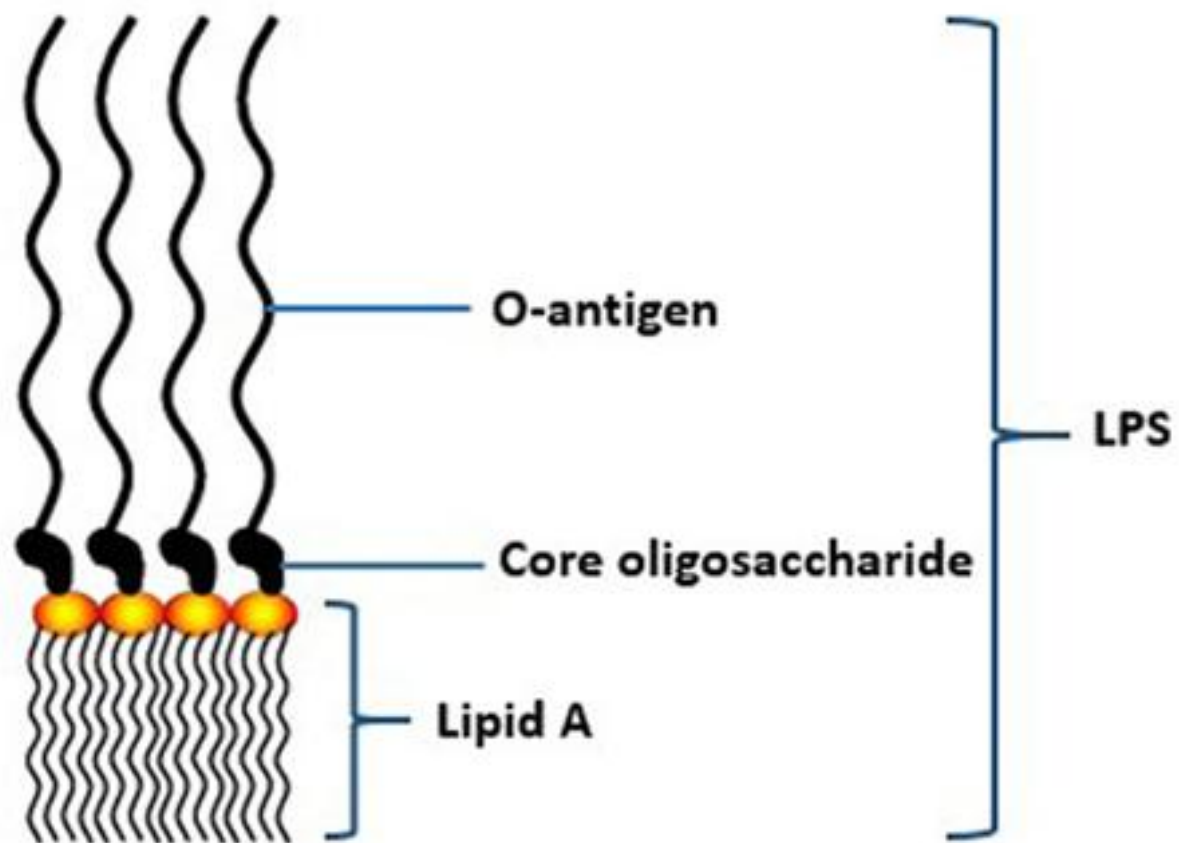
Ядро – кетодезоксиоктоновая кислота, гептоза. полисахарид, общий у всех грам(-) бактерий

O-специфическая полисахаридная часть

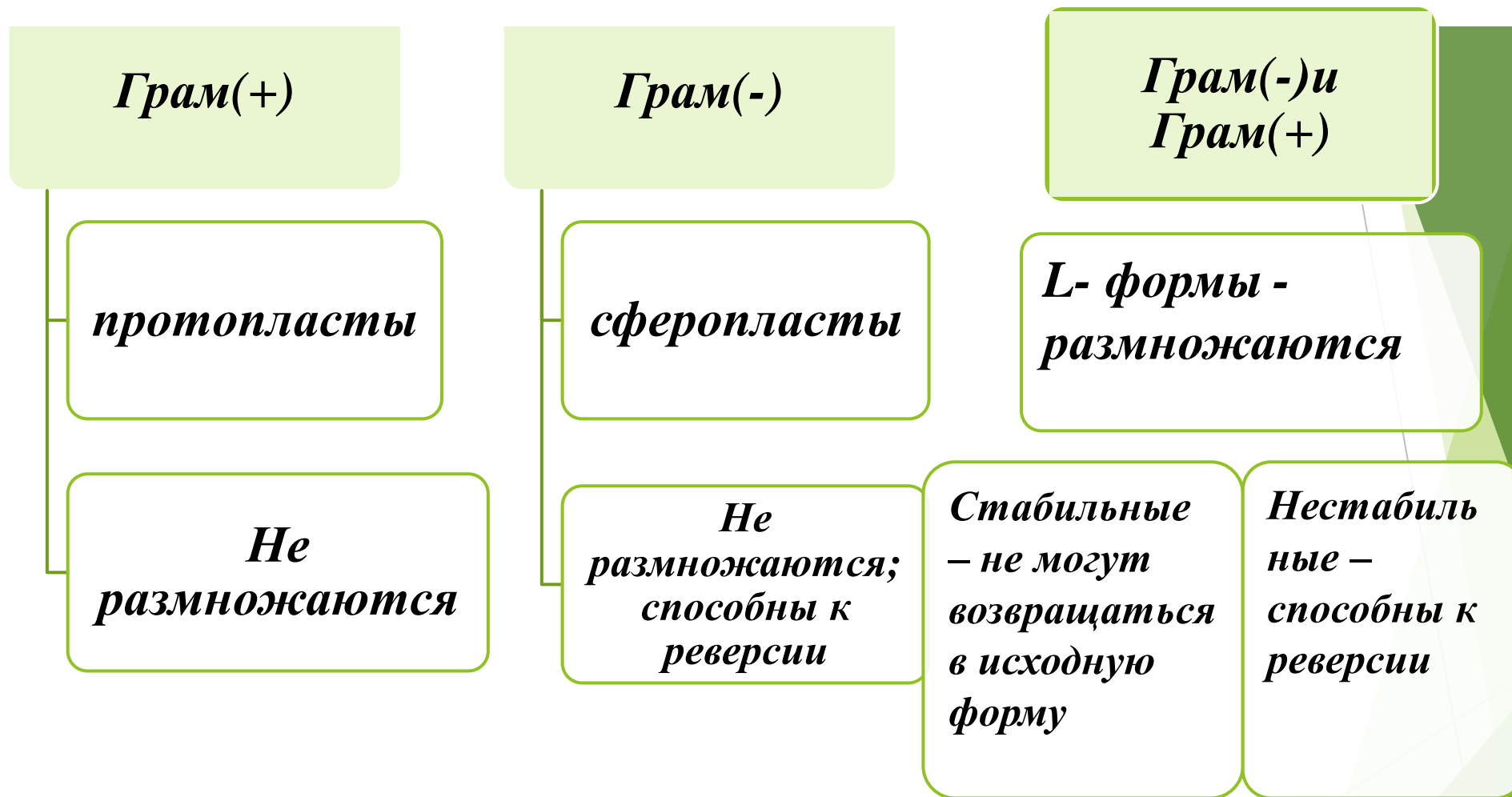
- Повторяющиеся полисахаридные последовательности (три-, тетра-, пента-)
- Обуславливает серогруппу



Строение липополисахарида



Утрата клеточной стенки



- Латентная инфекция
- Развитие антибиотикорезистентности

Методы микробиологического исследования

1. Микроскопический метод

*2. Культуральный (бактериологический,
вирусологический, микологический,
паразитологический) метод*

3. Биологический метод

4. Иммунологический метод

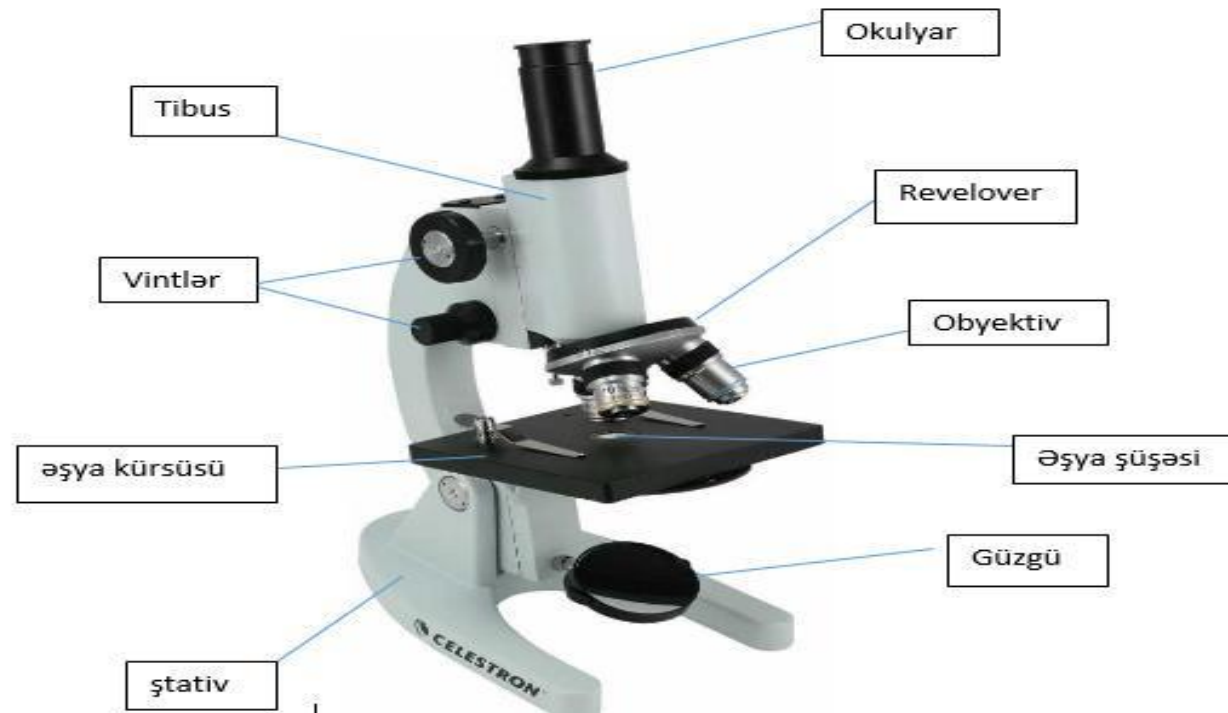
- серологический

- кожно-аллергические пробы

5. Молекулярно-генетический метод

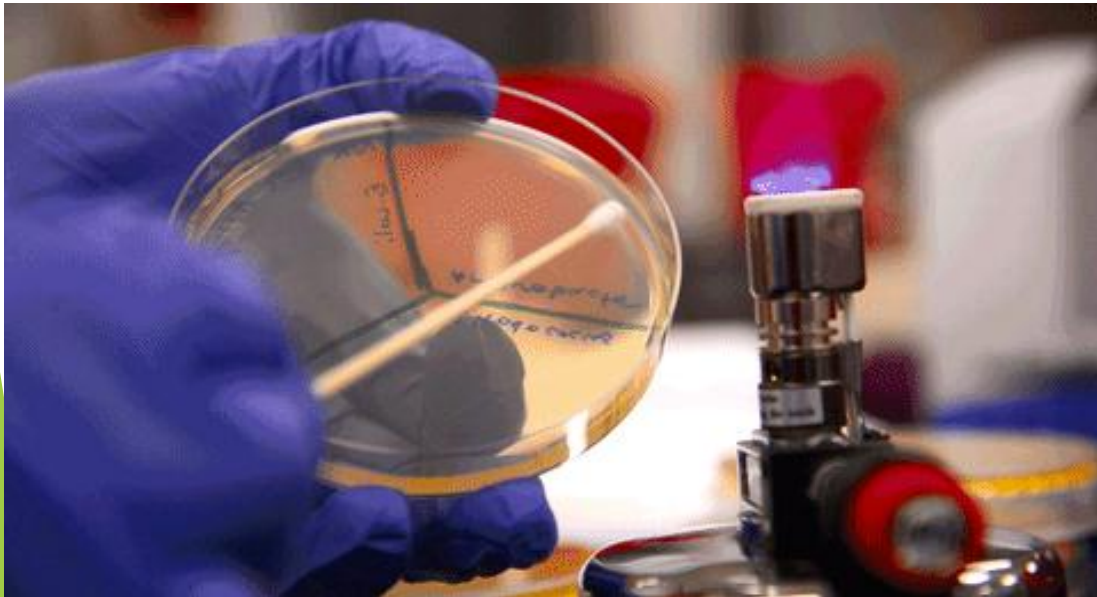
Метод микроскопии

- ❑ С помощью микроскопического метода в исследуемом материале определяют наличие микроорганизмов и их морфологию.
- ❑ Дополнительные элементы – определяют наличие капсулы, спор, жгутиков, других элементов (зёрна волютина).
- ❑ Поскольку многие микроорганизмы невозможно определить на основании морфологии и тинкториальных свойств, поэтому микроскопический метод считается приблизительным диагностическим методом.



Культуральный (бактериологический) метод

- При проведении исследования этим методом производится посев патологического материала на соответствующие питательные среды, инкубация, получение «чистой культуры» и идентификация.*
- Будучи **«золотым стандартом»** микробиологической диагностики, метод позволяет правильно определить возбудителя.*



Биологический и экспериментальный метод

- ❑ *Производится заражение лабораторных животных патологическим материалом*
- ❑ *Биологический метод применяют, если невозможно получить чистую культуру бактериологическим методом.*
- ❑ *Изучается патогенность, вирулентность и токсигенность микроба.*
- ❑ *Проводятся экспериментальные исследования новых лекарственных препаратов.*



Иммунологический метод

Серологический метод – в сыворотке крови определяют антигены возбудителя, либо антитела против возбудителя, а так же с помощью известной иммунной сыворотки определяют вид и серовар неизвестного микроба (**серологическая идентификация**).



Кожно-аллергическая проба

- *В связи с тем, что антигены возбудителей вызывают сенсibilизацию, для диагностики инфекционных болезней применяются аллергические реакции*
- *при туберкулёзе - проба Манту,*
- *при бруцеллёзе - проба Бюрне,*
- *при туляремии - реакция на тулярин и т.д.*



Молекулярно-генетический метод

- ▶ **Полимеразная цепная реакция.** Основана на принципе приумножения (амплификации) и определения нуклеиновой кислоты возбудителя в патологическом материале либо в чистой культуре.
- ▶ **ДНК и молекулярная гибридизация РНК.** Основаны на определении геномных фрагментов, характерных для возбудителя.
- ▶ **Основное преимущество молекулярно-генетического метода – высокая чувствительность и специфичность..**

