

ГБУ РМЭ СПО «Йошкар-Олинский медколледж»

Лекция 9. Бактериология.

Классификация бактерий.

Морфология бактерий и
методы её изучения.

Составитель:

преподаватель микробиологии

Кузьмина Ирина Николаевна

2015г.

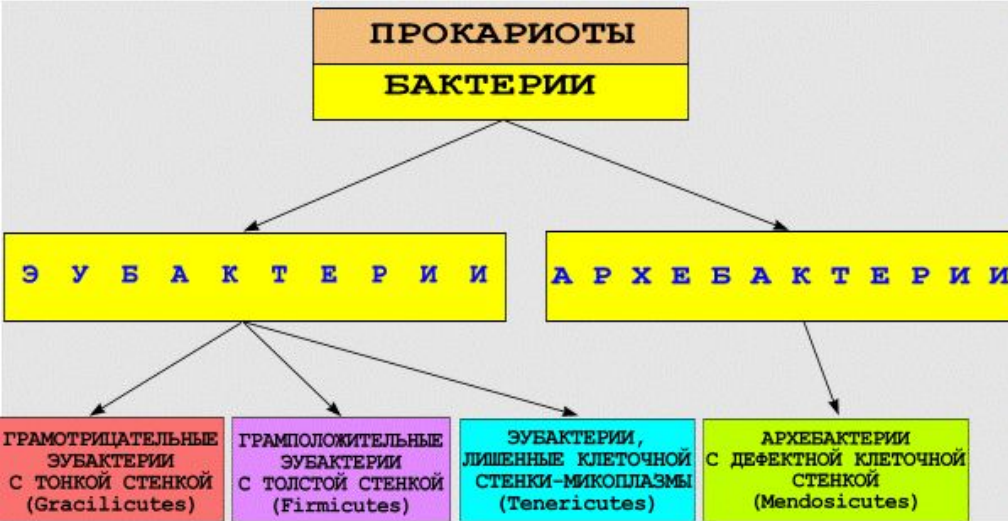
План



Классификация бактерий по Берджи.

Основы морфологии микроорганизмов.

- Строение бактериальной клетки.
- Простые и сложные методы окраски – по Граму.
- Спорообразование.
- Культивирование бактерий.
- Д.з. по учебнику Прозоркиной стр.13-25, стр. 43-48, 56-58,
- Черкес с.23-30, 37-44, 49-51,109-116.



Единая международная классификация

по Руководству Берги (1980, 2001)

- I Класс – бактерии.

Порядки: собственно бактерии, актиномицеты, спирохеты, хламидии.

- II Класс – риккетсии.
- III Класс – мягкокожие (археобактерии) – микоплазмы.
- IV особое царство – вирусы.



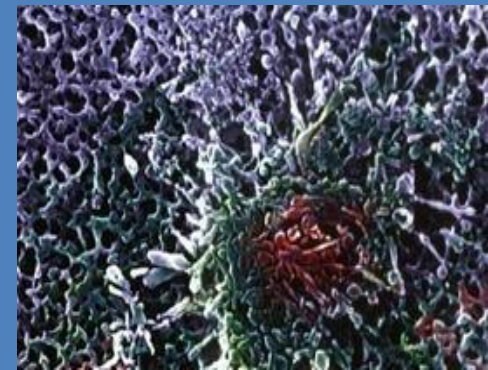
Актиномицеты – это ветвящиеся грамположительные – грам «+» бактерии, образующие грибницу.

Спирохеты – тонкие, длинные, извитые (спиралевидные формы) бактерии, подвижные при «сгибательном» изменении клеток.

- **Хламидии (гальпровии)** – обязательные внутриклеточные нитевидной или шарообразной формы грам «-» бактерии, энергетические паразиты живых клеток.

- **Риккетсии** – самые мелкие грам «-» палочковидные бактерии (0,35 – 1 мкм), обязательные внутриклеточные паразиты членистоногих.

- **Микоплазмы** – мелкие бактерии, окружённые ЦПМ и не имеющие клеточной стенки



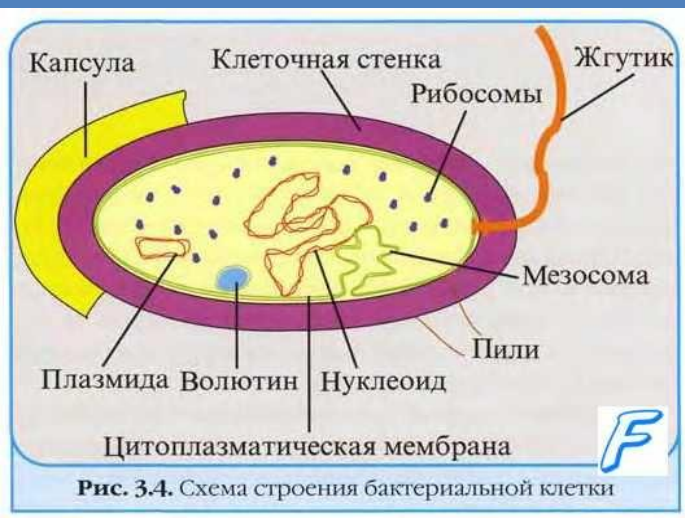


вирус гепатита С

- **Вирусы** – мельчайшие м/о, не имеющие клеточного строения, белоксинтезирующей системы, содержат ДНК или РНК.
- **Прионы** – безнуклеиновые инфекционные частицы, представленные белками.
- **Бактерии** – одноклеточные микроорганизмы, морфологически отличающиеся друг от друга по величине, расположению и форме отдельных клеток, они лишены хлорофилла и размножаются простым делением.

Большинство бактерий – *сапрофиты*, но имеется и группа патогенных видов, вызывающих заболевания у человека, животных и растений – *паразиты*.

Основы морфологии микроорганизмов



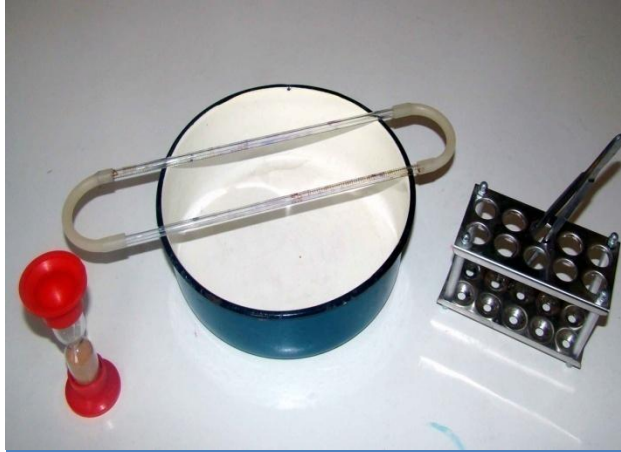
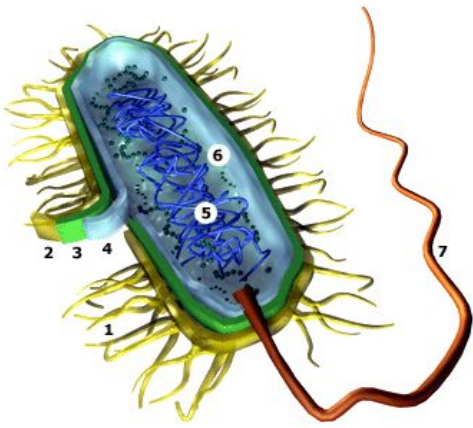
Строение бактериальной клетки.

Основные обязательные структуры: оболочка, цитоплазма и ядерное вещество.

Дополнительные – капсула, жгутики и др.

1. *Оболочка* бактерий плотная эластичная и состоит из трёх слоёв:

- 1) слизистый или капсула – для защиты;
- 2) клеточная стенка – для сохранения формы.

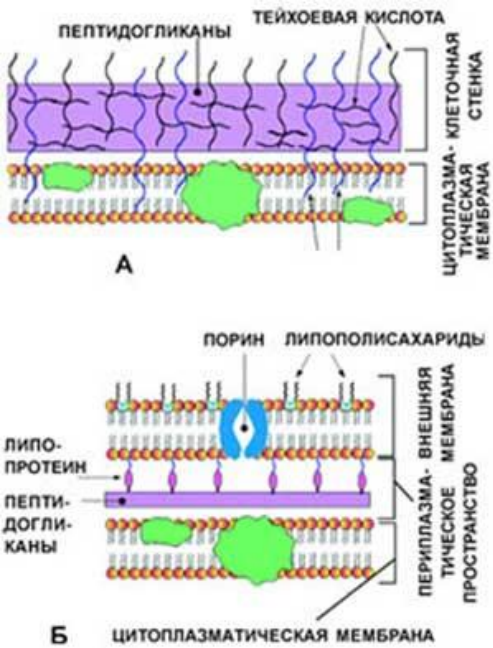


- Прочность стенке придаёт полисахарид муреин. У одних бактерий он образует многослойный каркас с полимерами – тейхоевыми кислотами. Такие м/о при окраске по методу Грама удерживают комплекс генциан фиолета и йода и окрашиваются в сине-фиолетовый цвет – это грам «+».
- **Грам «-»** имеют более тонкую клеточную стенку, включающую слой пептидогликана и липополисахаридов. Поэтому при сложной окраске они обесцвечиваются спиртом и прокрашиваются фуксином в **розово-красный цвет**.



Простые и сложные методы окраски.

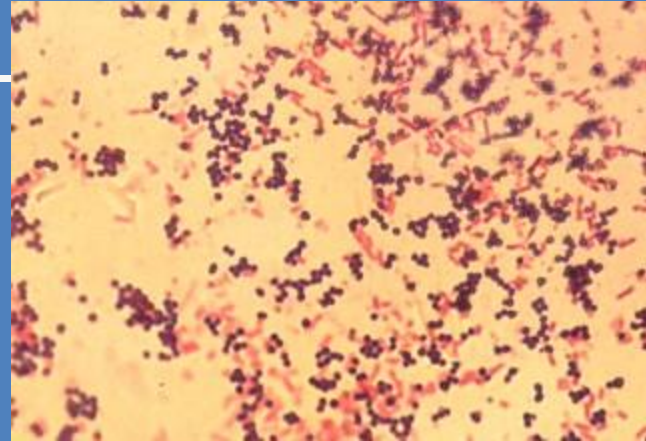
- При простом способе окрашивания на мазок наносится один краситель. При сложном методе окраски – два и более красителей.
- Перед окраской препарата мазок высушивают и фиксируют.
- Датский учёный-бактериолог **Грам Ханс Христиан Иоахим** (1853–1938), занимался **систематизацией** бактерий. Он показал, что одни бактерии имеют **толстую** клеточную стенку, другие — **тонкую** за счёт её разного строения. Такое строение характерно для каждого вида. Грам придумал как узнать, какая клеточная стенка у изучаемых клеток (бактерий) — этот метод назвали методом Грама



А - гр «+»

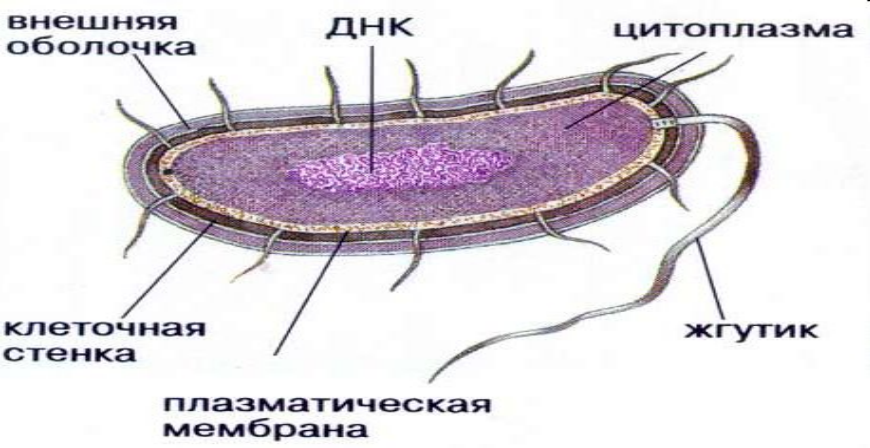
Окраска по Граму

Б – гр «-»



Мазок зубного налёта.

- I. Несколько капель генцианвиолета налить на препарат на 1-2 мин.
- II. Слить излишки, не промывать. Нанести раствор Люголя до почернения на 1 мин. Не промывать водой.
- III. Капнуть 96° спирт до обесцвечивания препарата (30-60 сек.)
- IV. Промыть водой.
- V. Докрасить фуксином 2-3 мин., промыть водой, высушить.

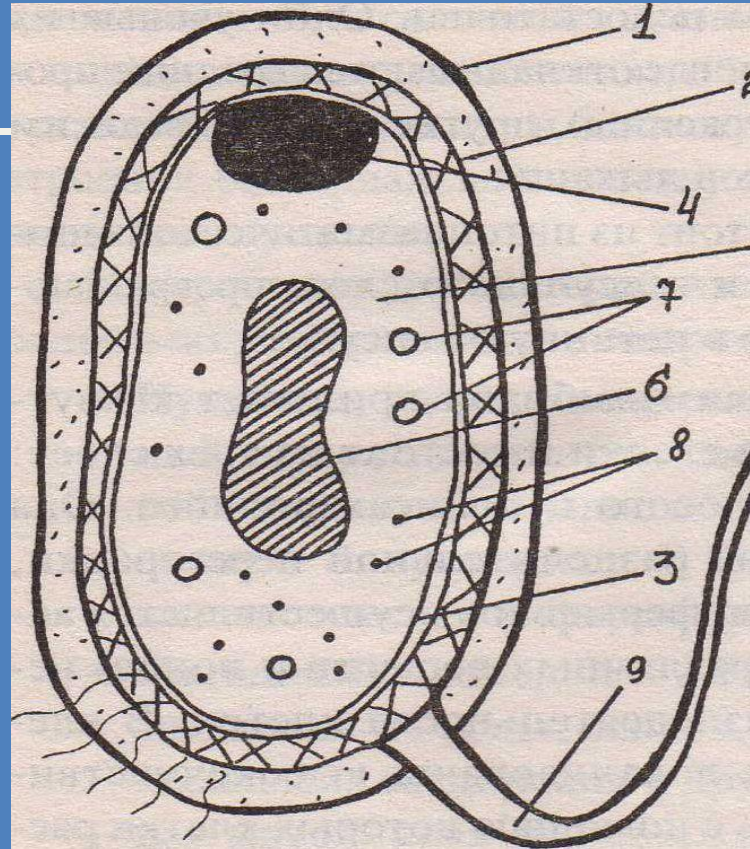


3) цитоплазматическая мембрана (цпм) с функцией проницаемости и транспорта веществ. Она отделяется при плазмолизе в 1% растворе NaCl.

2. *Цитоплазма* – коллоидная смесь, содержит рибосомы (функция синтеза белка), различные органические соединения, гранулы (с запасом питательных веществ), включения.

3. *Ядерное вещество* клетки – нуклеоид (генофор) в виде двунитчатой ДНК, замкнутой в кольцо. Функция хранения генетической информации

Строение бактериальной клетки



1-капсула; 2-клеточный стенка; 3-цитоплазматическая мембрана; 4-спора; 5-цитоплазма; 6-ядерное вещество; 7-лизосомы; 8-рибосомы; 9-жгутик; 10-пили

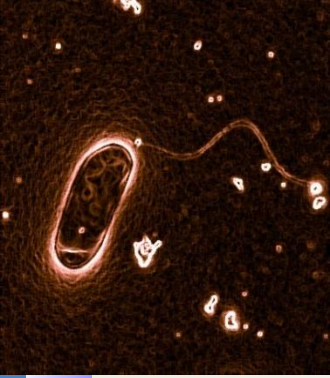


Фимбрии и пили (ворсинки) – короткие и тонкие нити из белка – пилина покрывают тело клетки (у протей, сальмонелл, эшерихий).

Бывают: общего типа (для прикрепления) и половые конъюгационные F-пили (для передачи наследственного материала).

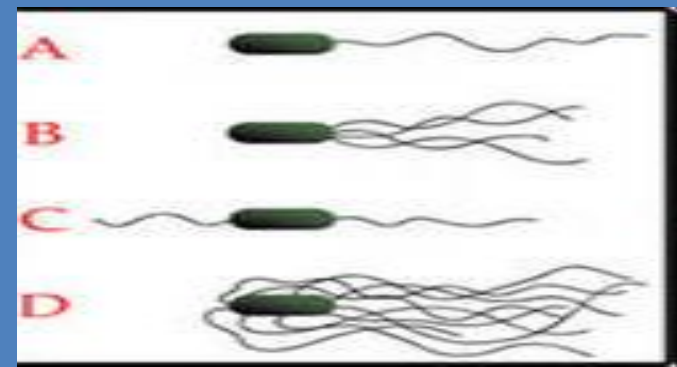
Жгутики – тонкие нитевидные фибриллы, состоящие из сократимого белка-флагеллина, по длине превышающие саму клетку. Они характерны для палочковидных бактерий. Число и расположение жгутиков является видовым признаком.

Рис. А внизу



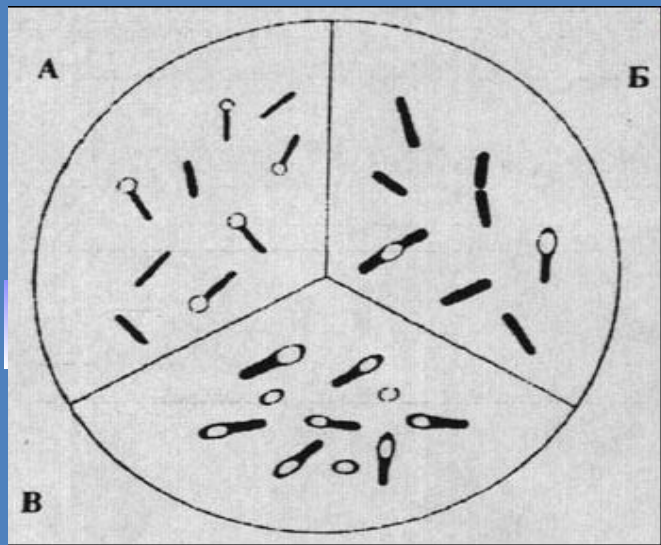
Монотрихи – бактерии с одним жгутиком на конце. Например, холерный вибрион.

- **В – Лофотрихи** – бактерии с пучком жгутиков на одном конце. Род псевдомонады – синегнойная палочка.
- **С – Амфитрихи** – имеют по одному жгутику или пучку на обоих полюсах. Например, спириллы.
- **Д – Перитрихи** – жгутики расположены по всей поверхности тела. Род сальмонелла – брюшнотифозная палочка, кишечная





- **Спорообразование** – образование покоящейся формы при неблагоприятных условиях существования (высокая t° , высушивание, мало питат-х веществ) только у палочковидных бактерий. Одной клетке соответствует одна спора, поэтому функция защитная. Споры погибают только при $t^{\circ} > +120^{\circ}$ и $p = 1,5-2$ атм. – автоклавирование.



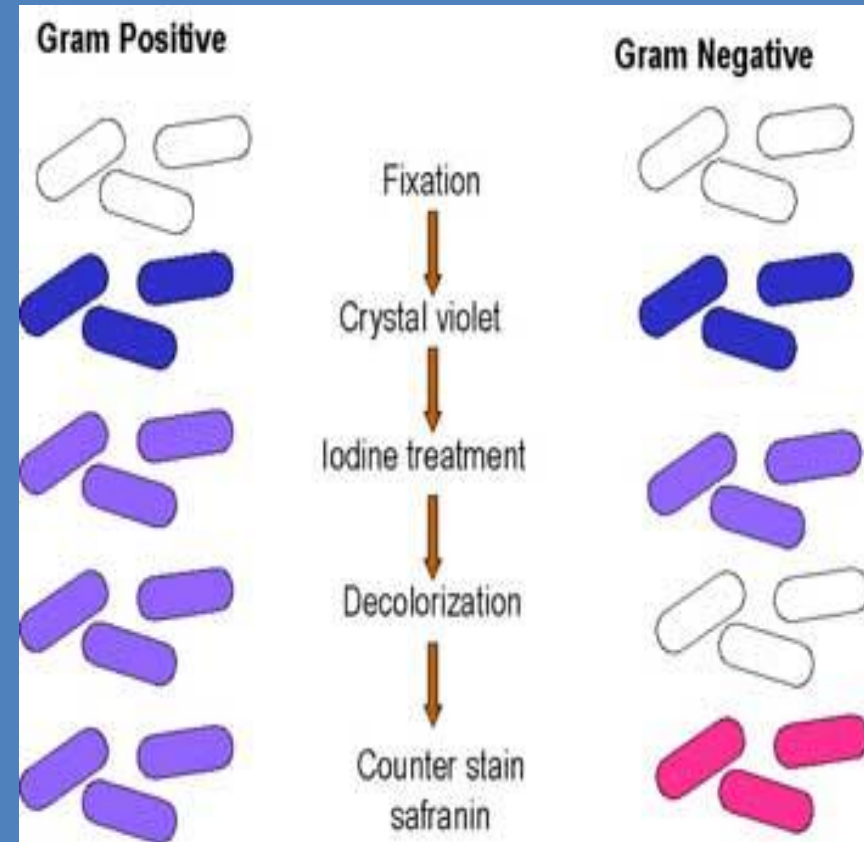
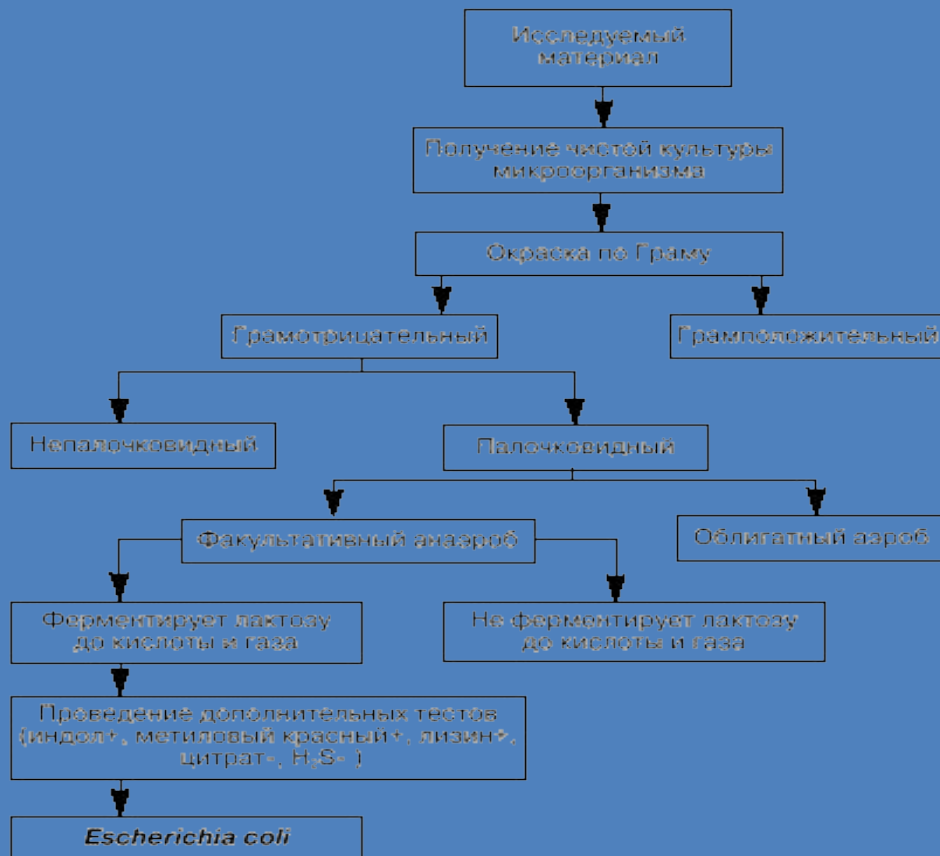
Расположение спор

- А) терминальное – на конце палочки у кластридий столбняка;
- В) субтерминальное – ближе к концу клетки у возбудителя ботулизма, газовой гангрены;
- Б) центральное у сибиреязвенной бациллы.

В благоприятных условиях споры прорастают, проходя 3 последовательных стадии: активация, инициация, прорастание

Идентификация микроорганизмов –

это установление таксономии и классификация выделенного микроба при изучении морфологии, подвижности, тинкториальности, ферментативной активности. Она очень важна при диагн-ке болезней

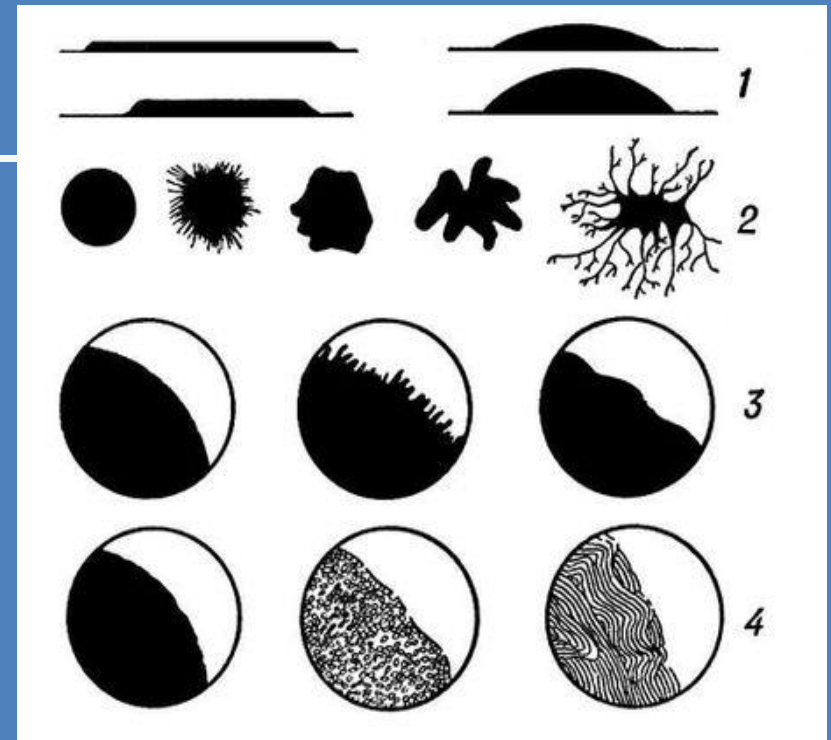
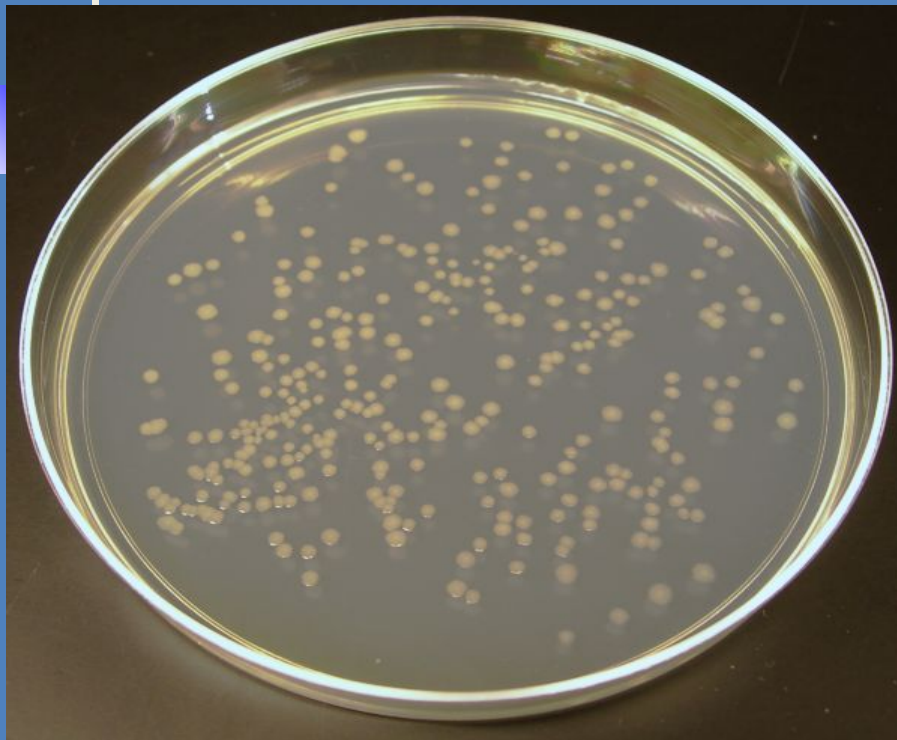


Иммерсионный объектив (с черной полосой) погружают в каплю масла на препарате-мазке.



- Особенностью иммерсионных объективов является то, что между фронтальной линзой такого объектива и препаратом помещают иммерсионную жидкость, имеющую показатель преломления такой же, как стекло (или близкий к нему), что обеспечивает увеличение числовой апертуры и разрешающей способности объектива.

Культуральные свойства бактерий – это характер их роста на питательной среде



Рост на плотной питательной среде:

- 1 – расположение колонии (плоское или выпуклое),
- 2 – форма и размеры колонии,
- 3 – края колонии,
- 4 – характер поверхности и прозрачность.

Морфологические свойства бактерий – их форма и взаимное расположение, наличие спор, капсул, жгутиков



Визуализация **морфологических** изменений
бактериальных клеток

Тинкториальность – это способность воспринимать краски определённого цвета– дифференцировать по Граму. Витальная (прижизненная) окраска позволяет установить подвижность, отдифференцировать живые и мертвые клетки.

Биохимические свойства бактерий - при которых образуются определённые вещества и выделенная культура не расщепляет глюкозу, а расщепляет сахарозу.

Протеолитические свойства бактерий – способность ферментативно расщеплять белки, полипептиды и пептоны. Изучают на питательных средах с желатином, молоком, сывороткой и др.

*Молекула сахара
(глюкозы) состоит из 6 атомов
углерода*



Для культивирования бактерий используют питательные среды, к которым предъявляется *ряд требований*.

1. Питательность. Бактерии должны содержать все необходимые питательные вещества.
- 2. Изотоничность. Бактерии должны содержать набор солей для поддержания осмотического давления, определенную концентрацию хлорида натрия.
- 3. Оптимальный pH (кислотность) среды. Кислотность среды обеспечивает функционирование ферментов бактерий; для большинства бактерий составляет 7,2–7,6.
- 4. Оптимальный электронный потенциал, свидетельствующий о содержании в среде растворенного кислорода. Он должен быть высоким для аэробов и низким для анаэробов.
- 5. Прозрачность (чтобы был виден рост бактерий, особенно для жидких сред) 6. Стерильность (без др. бактерий)

Классификация питательных сред.

1. По происхождению:

- 1) естественные натуральные (молоко, желатин, картофель и др.);
- 2) искусственные – среды, приготовленные из специально подготовленных природных компонентов (пептона, аминокептида, дрожжевого экстракта);
- 3) синтетические – среды известного состава, приготовленные из химически чистых неорганических и органических соединений (солей, аминокислот)

2. По составу:



- 1) простые – мясопептонный агар - МПА, мясопептонный бульон - МПБ, агар Хоттингера, пептонная вода, питательный желатин;
- 2) сложные – это простые с добавлением дополнительного питательного компонента (кровяного, шоколадного агара): сахарный бульон, желчный бульон, сывороточный агар, желточно-солевой агар, среда Китта—Тароцци, среда Вильсона—Блера и др.



3. По консистенции:

- 1) твёрдые (содержат 3–5 % агар-агара);
- 2) полужидкие (0,15—0,7 % агар-агара);
- 3) жидкие (не содержат агар-агара).



4. По назначению:

- 1) универсальные основные общего назначения – для культивирования большинства бактерий (мясопептонный агар, мясопептонный бульон, кровяной агар);
- 2) специального назначения:
 - а) избирательные элективные – среды, на которых растут бактерии только одного вида (рода), а род других подавляется (щелочной бульон, 1 %-ная пептонная вода, желточно-солевой агар, казеиново-угольный агар;

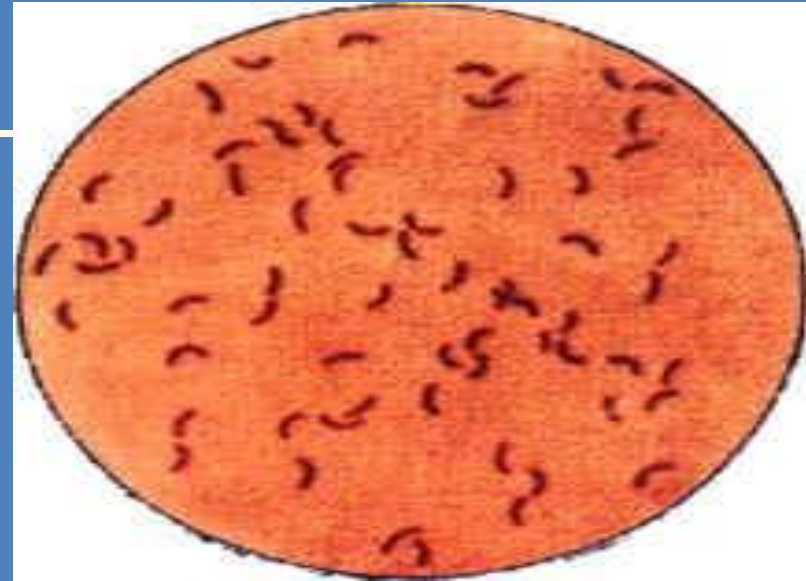
По консистенции:

твёрдые, **полужидкие** и **жидкие**
(синтетические и полусинтетические)



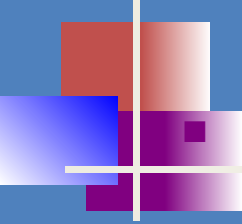
По составу:

Холерный вибрион в мазке из
пептонной воды



Питательный желатин

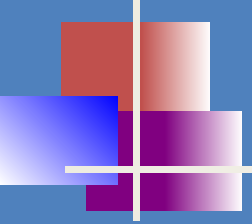
б) дифференциально-диагностические



среды, на которых рост одних видов бактерий отличается от роста других видов по тем или иным свойствам, чаще биохимическим (среда Эндо, Левина, Гиса, Плоскирева и др.);

- в) среды обогащения – среды, в которых происходит размножение и накопление бактерий-возбудителей какого-либо рода или вида, т. е. обогащение ими исследуемого материала (селенитовый бульон);
- 3) консервирующие (глицерин)

Методы выделения чистых культур

- 
-
- 1. Механическое разобщение на поверхности плотной питательной среды (метод штриха обжигом петли, метод разведений в агаре, распределение по поверхности твёрдой питательной среды шпателем, метод Дригальского).
 - 2. Использование селективных питательных сред.
 - 3. Создание условий, благоприятных для развития одного вида (рода) бактерий (среды обогащения).
 - Чистую культуру получают в виде *колоний*