

Классификация и строение микроорганизмов



АКТИНОМИЦЕТЫ



- **Классификация:**
- **Тип:** Actinobacteria
- **Класс:** Actinobacteria
 - **Роды:**
 - Actinomyces (A.bovis)
 - Nocardia (N.asteroides)
- **Медицинское значение** - вызывают **актиномикоз** (в пораженных тканях образуют переплетения гиф — **друзы**, которые в центре кальцинируются) и **нокардиоз**

Актиномицеты

- **Морфология:**



-  имеют вид палочек или нитей (гиф), которые переплетаясь образуют **мицелий** (субстратный и воздушный),

-  на концах воздушного мицелия располагаются **спороносцы** (орган плодоношения), несущие 1 или несколько **спор**,

-  жгутиков не имеют,

-  истинных спор и капсул не образуют.

Актиномицеты

- **Отличие от бактерий** - в составе пептидогликана клеточной стенки имеют:

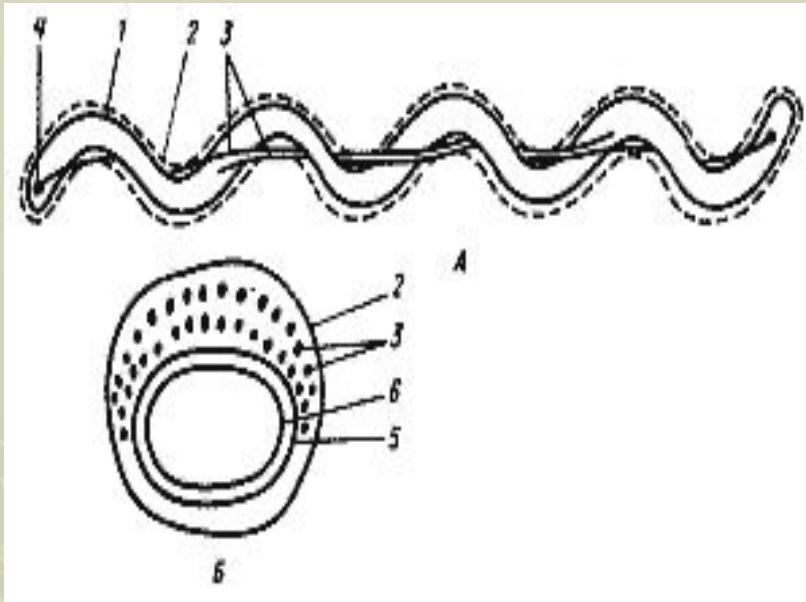


- арабинозу,
- галактозу,
- ксилозу,
- мадуросу.

Спирохеты

Классификация

- **Тип:** Spirochaetes
- **Класс:** Spirochaetes
- **Роды:**
 - Treponema
(*T. pallidum*)
 - Leptospira
(*L. interrogans*)
 - Borrelia
(*B. recurrentis*)



1 — протоплазматический цилиндр; 2 — наружный чехол; 3 — аксиальные фибриллы; 4 — блефаропласт = место прикрепления аксиальных фибрилл; 5 — пептидогликановый слой клеточной стенки; 6 — ЦПМ.

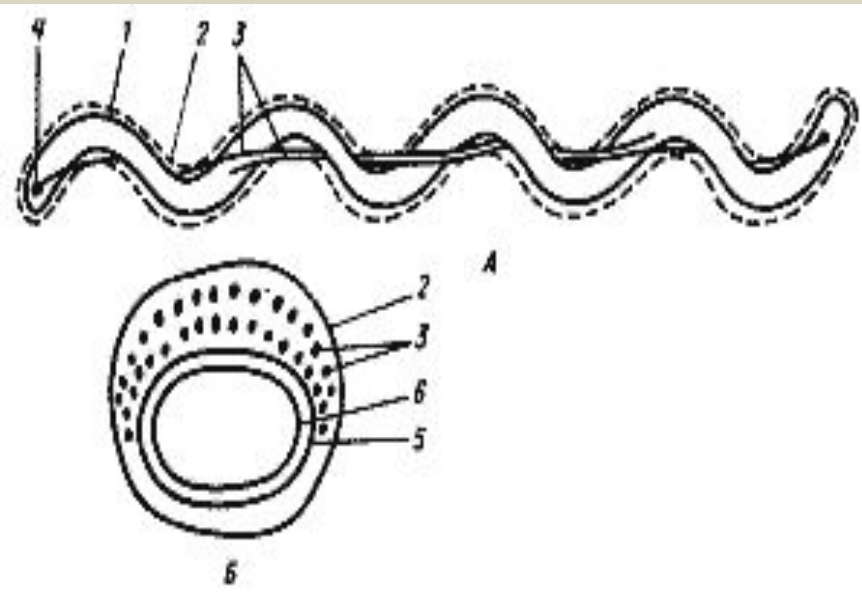
Спирохеты

Особенности ультраструктуры

В периплазматическом пространстве клеточной стенки вдоль всего тела бактерий проходит **осевая нить** (аксиальная нить или фибрилла), которая крепится к **блефаропластам**,

Осевая нить состоит (аналогично жгутику) из сократительного белка **флагеллина** и служит органоидом движения.

Поэтому спирохеты двигаются благодаря сокращению всего тела.



1 — протоплазматический цилиндр; 2 — наружный чехол; 3 — аксиальные фибриллы; 4 — блефаропласт = место прикрепления аксиальных фибрилл; 5 — пептидогликановый слой клеточной стенки; 6 — ЦПМ.

Особенности морфологии спирохет

	Treponema	Borrelia	Leptospira
Форма	штопорообразная	Неправильно изогнутая	Сигмовидная, С- или Z-образная
Количество и характер завитков	8-12 завитков одинаковой амплитуды	амплитуда и количество завитков не постоянны	первичные завитки (около 20) -практически не видны, а вторичные («крючья») – 2 - направлены в одну или в разные стороны
Количество фибрилл	3-4	7-20	2
Характер движения	Плавное, сгибательно-поступательное	Толчкообразное, сгибательно-поступательное	Очень активное, вращательное
Окраска по Романовскому-Гимзе	Бледно-розовая	Сине-фиолетовая	Розово-сиреневая, но чаще изучают в темном поле зрения по вращательному движению

Особенности морфологии спирохет



Трепонемы



Боррелии



Лептоспиры

Особенности морфологии и ультраструктуры риккетсий

Классификация:

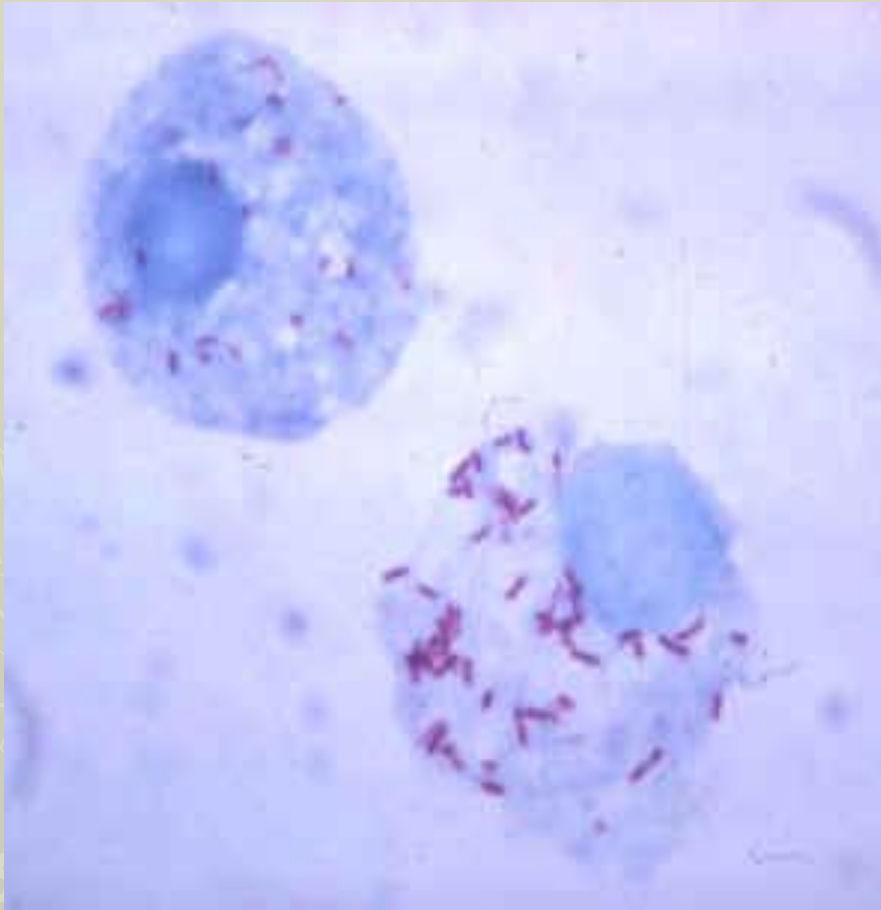
- Тип: Proteobacteria
- Класс:
Alphaproteobacteria
- Род: Rickettsia
(R. prowazekii)



Ультраструктура:

- типичная структура грамотрицательных бактерий,
- у некоторых видов есть наружная мембрана,
- жгутиков, спор, капсул нет.

Особенности морфологии и ультраструктуры риккетсий



Морфология – коккобактерии

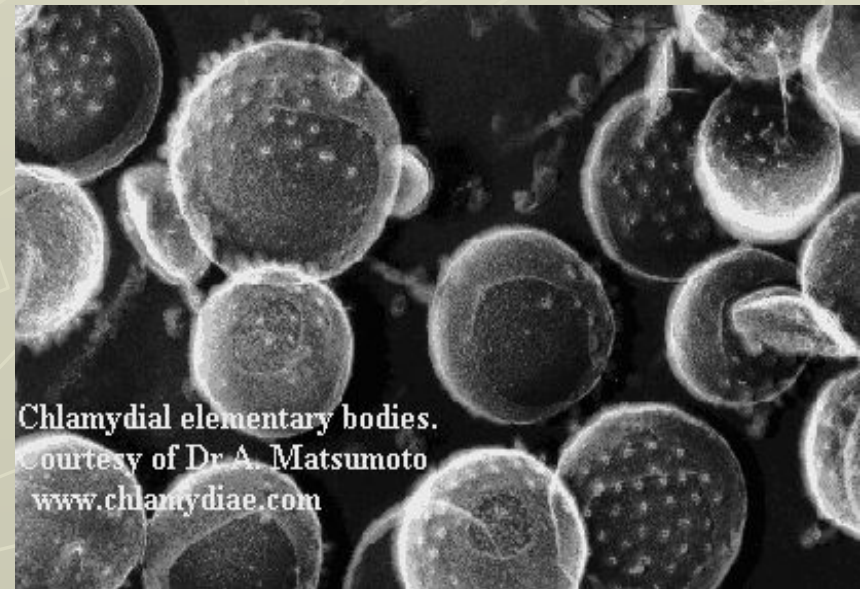
Принципиальное
отличие от других
прокариот - облигатные
внутриклеточные паразиты

Локализация в клетке-
хозяине - диффузно в
цитоплазме и/или ядре

Классификация и ультраструктура хламидий

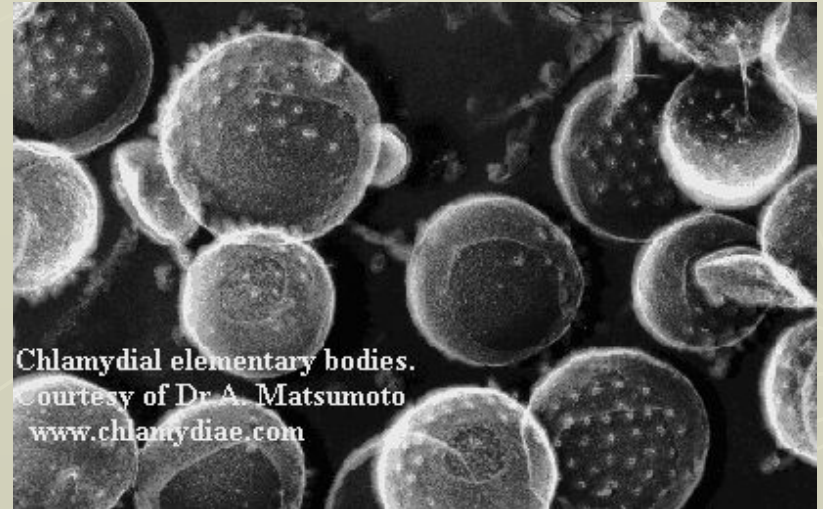
- Тип: Chlamydiae
- Класс: Chlamydiae
- Род: Chlamydia
(C. psittaci,
C. trachomatis,
C. pneumoniae)

Ультраструктура —
типичная для
грамотрицательных
бактерий



Особенности морфологии хламидий

- Морфология:
- Вне клеток – **элементарные тельца** = спороподобные сферические клетки (являются инфекционной формой),
- В клетках – **ретикулярные тельца** = делящиеся формы, образуют микроколонии в клетках.
- Принципиальное отличие от других прокариот – облигатные внутриклеточные паразиты.



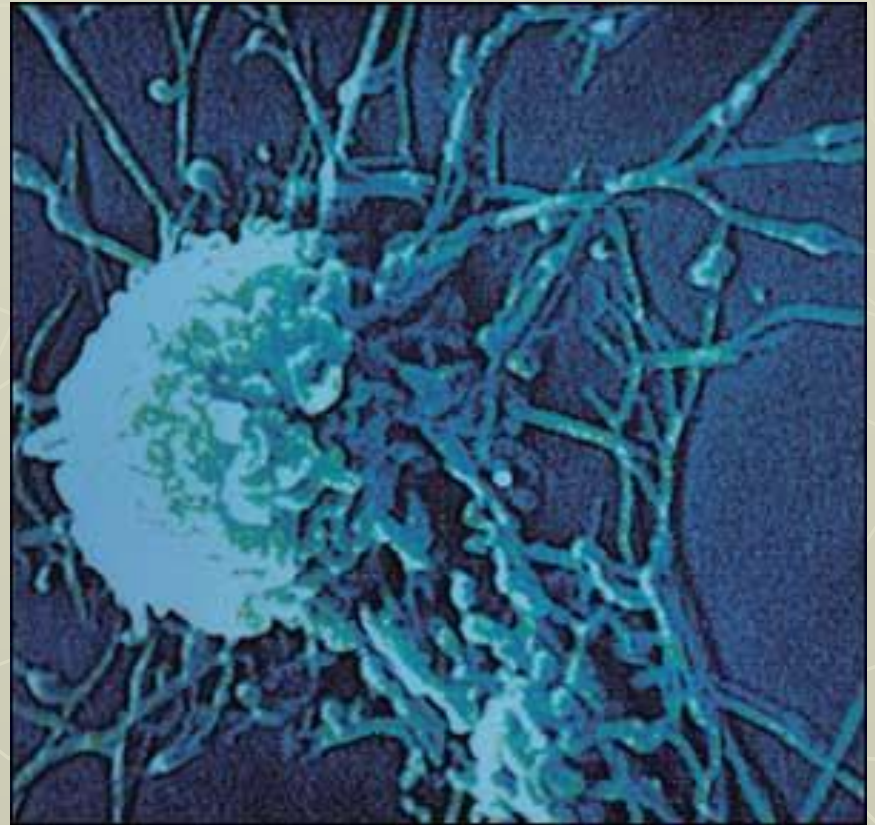
Локализация хламидий в клетке-хозяине

В виде цитоплазматических включений (микроколоний, окруженных общей оболочкой)



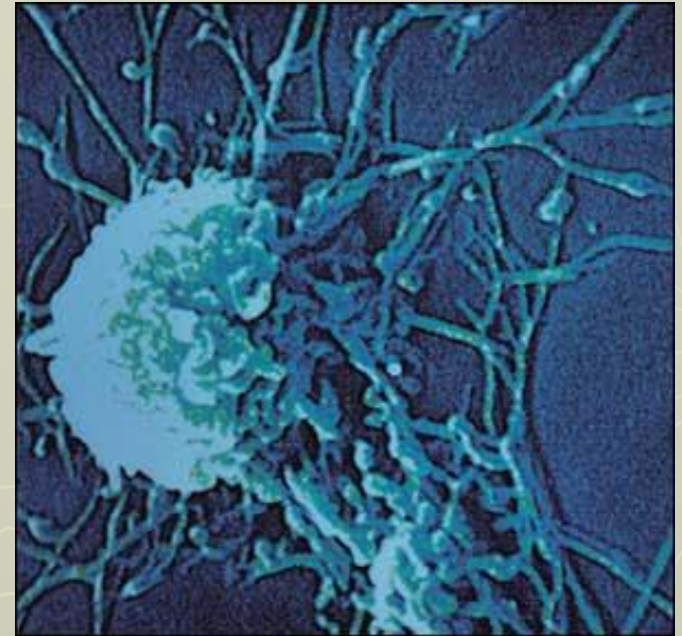
Классификация микоплазм

- Тип: Firmicutes
- Класс: Mollicutes
- Роды:
 - Mycoplasma
(*M.pneumoniae*)
 - Ureaplasma
(*U.urealiticum*)



Особенности морфологии и ультраструктуры микоплазм

- Полиморфные микроорганизмы,
- Покрываются **трехслойной эластичной мембраной**,
- В ЦПМ содержатся **стерины**,
- снаружи расположен **капсулоподобный слой**,
- Жгутиков не имеют, спор не образуют,
- Очень сильно отличаются по **структуре ДНК**



Принципиальные отличия от других прокариот:

- Нет **КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ** → нет определенной формы,

Классификация грибов

Надцарство: эукариот

- Царство: Mycota или Fungi
- Отделы:
 - Mucormycota (грибы-слизневика)
 - **Eumycota (настоящие грибы),**
Классы:
 1. **Chytridiomycetes** – *фикомицеты*
 2. **Hyphochytridiomycetes** – *фикомицеты*
 3. **Oomycetes** – *фикомицеты*
 4. **Zygomycetes** – *фикомицеты*
 5. **Ascomycetes** – *эумицеты*
 6. **Basidiomycetes** – *эумицеты*
 7. **Deuteromycetes** – *эумицеты*

Классификация Eumycota по признаку септированности гиф

1. несептированные = низшие грибы – *фикомицеты*,
2. септированные = высшие грибы – *эумицеты*.

Классификация Eumycota по признаку процесса размножения

- ▶ половой (*совершенные грибы*) – все, кроме дейтеромицетов,
- ▶ бесполой (*несовершенные грибы*) – дейтеромицеты.

Дейтеромицеты

сборная группа разных видов грибов:

- ▶ не имеющих полового процесса
- ▶ размножающихся
 - вегетативно,
 - с помощью спор.

Строение клеток грибов

- клеточная стенка
 - полисахариды
 - преимущественно — **ХИТИН** (но с низким содержанием азота, в отличие от клеток членистоногих)
 - глюканы
 - Маннаны
- ▶ цитоплазматическая мембрана
 - ▶ стероиды
 - ▶ эргостерин
 - ▶ зимэстерол

Строение клеток грибов

- ядро
 - диаметром от 2 до 12 мкм
 - окружено ядерной оболочкой
- Цитоплазма, в которой располагаются
 - Вакуоли,
 - Микротрубочки,
 - Эндоплазматическая сеть,
 - Митохондрии,
 - производные аппарата Гольджи (только у грибов!):
 - *сегресомы* = вакуолеподобные структуры, ограничивают поступление в клетку гидрофобных веществ,
 - *ХИТОСОМЫ* – содержат фермент хитинсинтетазу, необходимый для синтеза хитина

Типы роста грибов

1. Гифальный = мицелиальный (плесневой) – многоклеточные организмы,
2. дрожжевой – одноклеточные организмы.

Диморфизм грибков

- = феномен морфологического полиморфизма, когда один и тот же вид может быть:
- как **мицелиальным** (плесневым),
 - так и **дрожжеподобным**.
- = феномен может быть проявлением, н-р, адаптации гриба к изменившимся условиям внешней среды:
- при выделении от больного – **дрожжевая форма**,
 - при росте на питательных средах – **мицелиальная**.

Плесени – нитчатые грибы

- структурная вегетирующая единица = **гифа** – разветвлённая микроскопическая нить
- переплетаясь гифы образуют **мицелий** (способность его образовывать – отличие настоящих грибов от грибов-слизевиков)

Плесени: характеристика мицелия

- ▶ **субстратный** (вегетативный) – врастает в питательный субстрат,
- ▶ **воздушный** (репродуктивный):
 - формирует споры,
 - споры развиваются в специализированных структурах – *спорофорах*, находящихся на специализированных гифах воздушного мицелия,
 - различают эндо- и экзоспоры.

Плесени: эндоспоры

- Гифа воздушного мицелия = *спорангиофора*,
- Эндоспоры развиваются в терминально увеличенном конце гифы – *спорангии*,
- гифа, несущая спорангии – *спорангиеносец*.

Mucor



Плесени: экзоспоры = конидии

- Гифа воздушного мицелия, несущая экзоспоры = спорофора = *конидиофора*,
- Экзоспоры располагаются на поверхности спорофоры (= *конидии*),
- Гифа, несущая конидии = *конидиеносец*:
 - микроконидии — одноклеточные,
 - макроконидии — многоклеточные.

Плесени: типы конидий

Род *Aspergillus*



- ▶ конидиефоры заканчиваются терминальными пузырьками (головками), в которые вырастают бутылкообразные **КОНИДИИ.**

Плесени: типы конидий

Род *Penicillium*



Конидееносец
многоклеточный,
На конце формируется
кисточка

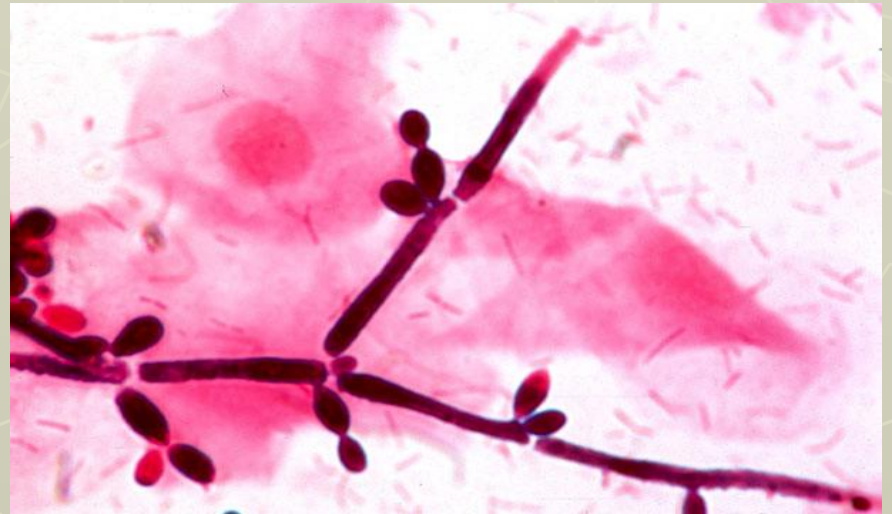
От нее отходят конидии

- ▶ *артроконидии* –
формируются при
фрагментации
конидиофора.

Дрожжи: морфология

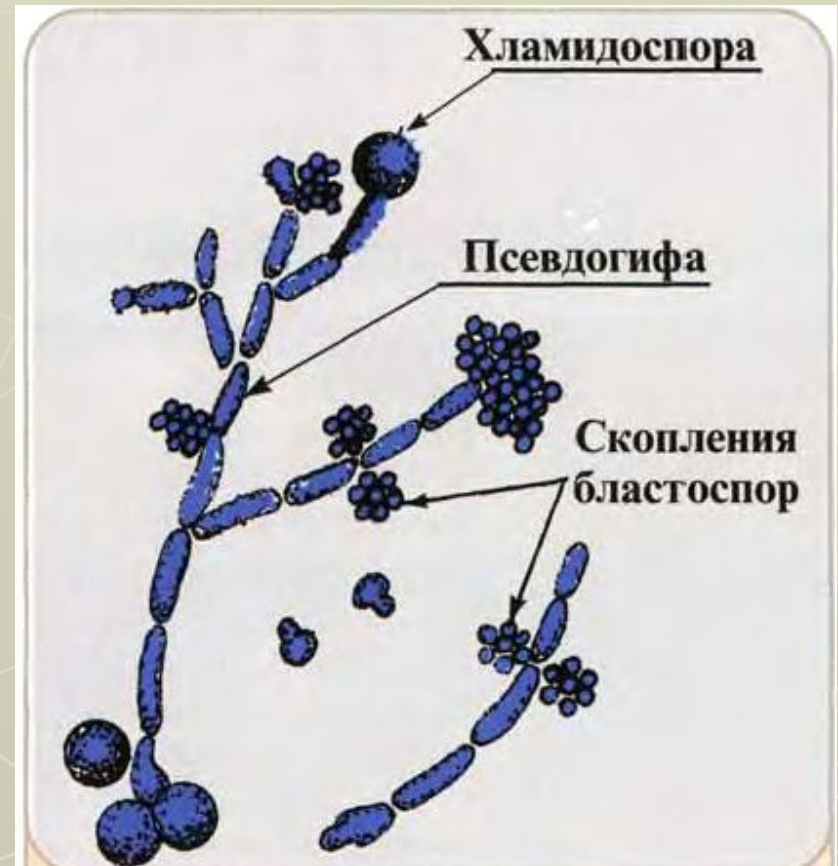
- ▶ Сферические или овоидные клетки от 3 до 15 мкм в диаметре
- ▶ Делятся почкованием

- ▶ *Candida albicans* В поражённой ткани



Дрожжи: морфология

- Образуют **псевдогифы** (псевдомицелий) – цепочки удлиненных клеток
- На концах псевдогиф располагаются **хламидоспоры** = крупные покоящиеся споры с двухслойной оболочкой
- На перетяжках псевдомицелия располагаются **бластоспоры** = клетки почки, которые трансформируются в псевдогифы



Патогенные простейшие:

классификация

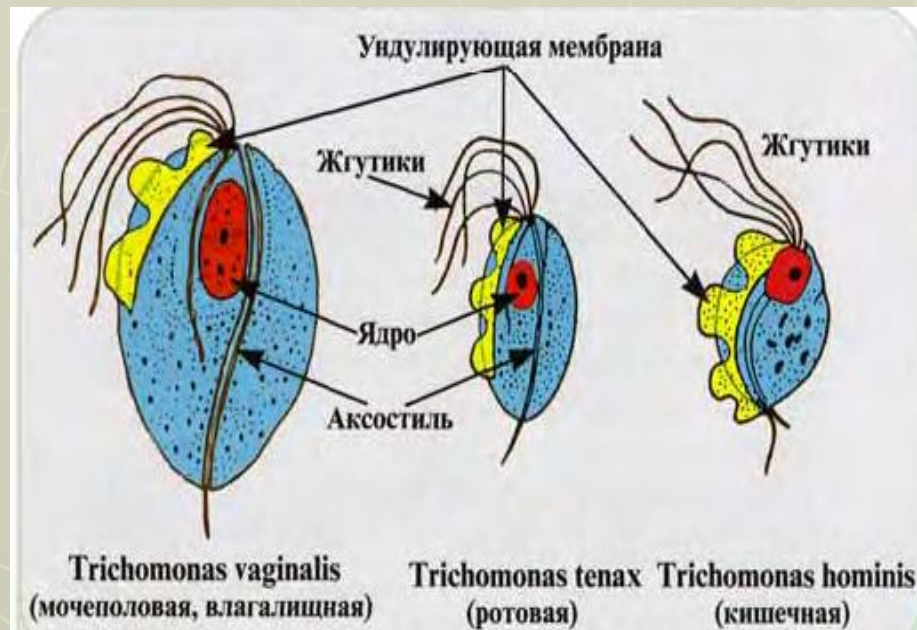
Царство: Animalia

Подцарство: Protozoa

Типы:

1. Sarcomastigophorae
2. Apicomplexa
3. Ciliophora
4. Microspora

Trichomonas



Патогенные простейшие: **общая характеристика**

- Одноклеточные микроорганизмы
- По структуре близки к клеткам животных
- Большинство – *гетеротрофный* тип метаболизма
- Клетки покрыты плотной оболочкой – *пелликулой*
- Многие подвижны
 - временные *псевдоподии*
 - постоянные органеллы:
 - *жгутики*
 - *реснички*
- Механизм питания:
 - фагоцитоз (просто организованные)
 - специальные структуры для поглощения пищи (более сложно организованные простейшие)
- Механизм выделения - эндоцитоз
- Дыхание – всей поверхностью клетки
- В неблагоприятных условиях образуют цисты

Патогенные простейшие: **общая характеристика**

- Одноклеточные микроорганизмы
- По структуре близки к клеткам животных
- Большинство – *гетеротрофный* тип метаболизма
- Клетки покрыты плотной оболочкой – *пелликулой*
- Многие подвижны
 - временные *псевдоподии*
 - постоянные органеллы:
 - *жгутики*
 - *реснички*
- Механизм питания:
 - фагоцитоз (просто организованные)
 - специальные структуры для поглощения пищи (более сложно организованные простейшие)
- Механизм выделения - эндоцитоз
- Дыхание – всей поверхностью клетки
- В неблагоприятных условиях образуют цисты

ФИЗИОЛОГИЯ ПРОКАРИОТ



Классификация бактерий по источнику углерода

- ▶ **Автотрофы** (лат. autos – сам, trophe – питание) - синтезируют все углеродсодержащие компоненты клетки из CO_2
- ▶ **Гетеротрофы** (лат. heteros – другой) - используют готовые органические углеродсодержащие соединения: гексозы (глюкоза), многоатомные спирты, углеводороды, органические кислоты, аминокислоты и др.: из окружающей среды – **сапрофиты**
 - живой клетки – **паразиты**:
 - ▶ **облигатные** = только живой клетки:
 - риккетсии
 - хламидии
 - ▶ **факультативные** = наряду с органическими соединениями окружающей среды – (большинство патогенных бактерий)

Классификация бактерий по источнику энергии

- ▶ **Фототрофы** (фотосинтезирующие) -
используют солнечную энергию,
например: зеленые или пурпурные бактерии
- ▶ **Хемотрофы** (хемосинтезирующие) -
получают энергию за счет окислительно-
восстановительных реакций,
например: серобактерии, железобактерии,
нитрифицирующие бактерии и др.

Классификация бактерий по природе донора электронов

- ▶ **Литотрофы** (греч. litos – камень) - хемотрофные организмы, которые используют неорганические соединения: H_2 , H_2S , CH_3 и др.
- ▶ **Органотрофы** - хемотрофные организмы, которые используют органические соединения: сахара, оксикислоты, многоатомные спирты

Классификация бактерий по источнику азота

- ▶ **Прототрофы** - усваивают азот из атмосферы, солей аммония, нитратов, нитритов, глюкозы; способны сами синтезировать все компоненты клетки
- ▶ **Ауксотрофы** - усваивают готовые азотсодержащие вещества из окружающей среды или организма хозяина;
 - теряют способность к синтезу какого-либо в-ва и требуют его наличия в среде культивирования
- ▶ **В-во наз-ся фактор роста**

Факторы роста бактерий

Аминокислоты	<i>Лейцин, тирозин</i> необходимы для <i>клостридий</i> ; <i>лейцин, аргинин</i> – для <i>стрептококка</i>
Пуриновые и пиримидиновые основания	<i>Аденин, гуанин, цитозин, урацил, тимин</i> - для <i>стрептококков</i>
Липиды	<i>Жирные кислоты</i> – для <i>стрептококков</i> , <i>холестерин</i> – для <i>микоплазм</i>
Витамины	<i>Никотиновая кислота</i> или ее амид – для <i>шигелл</i> и <i>коринебактерий дифтерии</i> <i>Тиамин (B₁)</i> - для <i>стафилококка, пневмококка, бруцелл</i> <i>Пантотеновая кислота</i> – для <i>клостридий столбняка, некоторых видов стрептококков</i>
Железопорфирины	<i>Гемы</i> – для <i>гемофилов</i> и <i>микобактерий туберкулеза</i>

Пути проникновения питательных веществ в бактериальную клетку

- ▶ Без затраты энергии (диффузия)
 - простая
 - облегченная
- ▶ С затратой энергии
 - **активный транспорт** = без химической модификации переносимых молекул
 - **транслокация химических групп** = с химической модификацией переносимых молекул

п
е
р
м
е
а
з
ы

Дыхание бактерий

- ▶ **или энергетический обмен веществ**
= цепь последовательных окислительно-восстановительных реакций, сопровождающихся переносом электронов от окисляющей системы к восстанавливающей и катализируемых строго специфичными ферментными системами.

Классификация бактерий по типу дыхания

- ▶ **1. Облигатные аэробы**
- ▶ **2. Облигатные анаэробы**
- ▶ **3. Факультативные анаэробы**

Среди них выделяют:

- А) Микроаэрофилы**
- Б) Капнеические**

Облигатные аэробы

- ▶ *Не развиваются без доступа кислорода,*
- ▶ Используют энергию, освобождающуюся при реакциях окисления, протекающих с поглощением свободного молекулярного кислорода.
- ▶ Растут на поверхности питательных сред.
- ▶ Например: *холерный вибрион, возбудители сибирской язвы и туберкулеза*

Облигатные анаэробы

- ▶ *Кислород для них – яд!*
- ▶ Они осуществляют ферментативное расщепление углеводов в анаэробных условиях – брожение.
- ▶ Растут на дне или в толще плотной питательной среды.
- ▶ Например: *клостридии столбняка, ботулизма, газовой анаэробной инфекции*

Факультативные анаэробы

- ▶ **растут как при доступе кислорода, так и при его отсутствии.**
- ▶ Используют энергию как от окислительных реакций, так и от брожения.
- ▶ Например: *эшерихии, сальмонеллы, стафилококки*
- ▶ Среди них выделяют:
 - А) **Микроаэрофилы** - хорошо растут при пониженном содержании кислорода.
Например: *молочнокислые бактерии*
 - Б) **Капнеические** - требуют повышенной концентрации CO_2 .
Например: *бычий тип бруцелл, бифидумбактерии*

ПРИНЦИПЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ БАКТЕРИЙ



Культивирование микроорганизмов

Метод культивирования	Микроорганизмы
In vivo: ▶ Культура клеток ▶ Птичий эмбрион ▶ Организм животного	Облигатные паразиты: ▶ Риккетсии ▶ Хламидии ▶ Вирусы
In vitro: ▶ Искусственные питательные среды	Почти все патогенные бактерии

Требования к условиям культивирования бактерий

► 1. Питательные потребности

- **простые** – растут на универсальных питательных средах
- **сложные** – растут на специальных питательных средах

► 2. Температура культивирования

- $\approx 37^{\circ}\text{C}$ – **мезофилы** (бол-во патогенных бактерий)
- $6 - 20^{\circ}\text{C}$ – **психрофилы** (возбудители чумы и лептоспироза),
- $50 - 60^{\circ}\text{C}$ – **термофилы** (актиномицеты, спороносные бациллы).

Требования к условиям культивирования бактерий

▶ 3. Реакция среды (pH)

- кислая – **ацидофилы** (pH = 4,0-6,0)
- нейтральная – большинство патогенных бактерий
- щелочная – **алкалифилы** (для холерного вибриона pH = 7,8-8,6)

▶ 4. Условия аэрации

- не принимают во внимание – **факультативные анаэробы**
- ↓ O₂ – **микроаэрофилы**
- ↑ CO₂ – **капнофилы**
- без доступа воздуха – **анаэробы**
- с обязательным доступом воздуха – **облигатные аэробы**

Требования к условиям культивирования бактерий

- ▶ 5. Длительность культивирования - зависит от времени генерации,
 - ▶ - для большинства бактерий составляет 24-48 ч;
 - ▶ некоторые растут дольше:
 - бактерии коклюша – 2-5 сут,
 - микробактерии туберкулеза – 3-4 нед.
- ▶ 6. Освещение - например, микобактерии.

Питательные среды

- ▶ А) должны содержать **воду**, т.к. все процессы осуществляются в воде
- ▶ Б) должны содержать **органический источник углерода и энергии:**
 - **органические соединения:** углеводы (Глюкоза!) аминокислоты, органические кислоты, липиды,
 - **пептон**- продукт неполного гидролиза белков, состоит из поли-, олиго- дипептидов,

Питательные среды

- ▶ В) должна содержать:
 - ▶ - **источники азота** – пептон и соли аммония,
 - ▶ - **серы** - сульфаты,
 - ▶ - **фосфора** - фосфаты,
 - ▶ - **микроэлементы** = *ионы кальция, магния, марганца, железа* – соли (фосфаты)
- ▶ Г) должна обладать **буферными свойствами** = фосфатный буфер или фосфатный буфер + карбонат кальция
- ▶ Д) должна быть **изотонической** – 0,87% хлорид натрия

Классификация искусственных питательных сред

► По происхождению:

- **Естественные** – натуральные продукты животного, растительного или микробного происхождения (молоко, сыворотка, кровь, картофель, морковь),
- **Синтетические** – химически чистые соединения в строго определенных концентрациях = минимальные среды (основа: минеральные соли и глюкоза),
- **Полусинтетические** – минимальные среды, к которым добавлен пептон и дрожжевой экстракт

Классификация искусственных питательных сред

- ▶ По сложности изготовления:
- ▶ **Простые** – выпускаются промышленностью в сухом виде;
- ▶ основу их составляют пептоны – продукты ферментативного или кислотного гидролиза белков животных и рыбы (питательный бульон, питательный агар),
- ▶ **Сложные** - готовятся на основе простых: добавляют 1% сахара, 10-20% сыворотки крови или 5-10% крови (кровяной агар, сахарно-сывороточный агар)

Классификация искусственных питательных сред

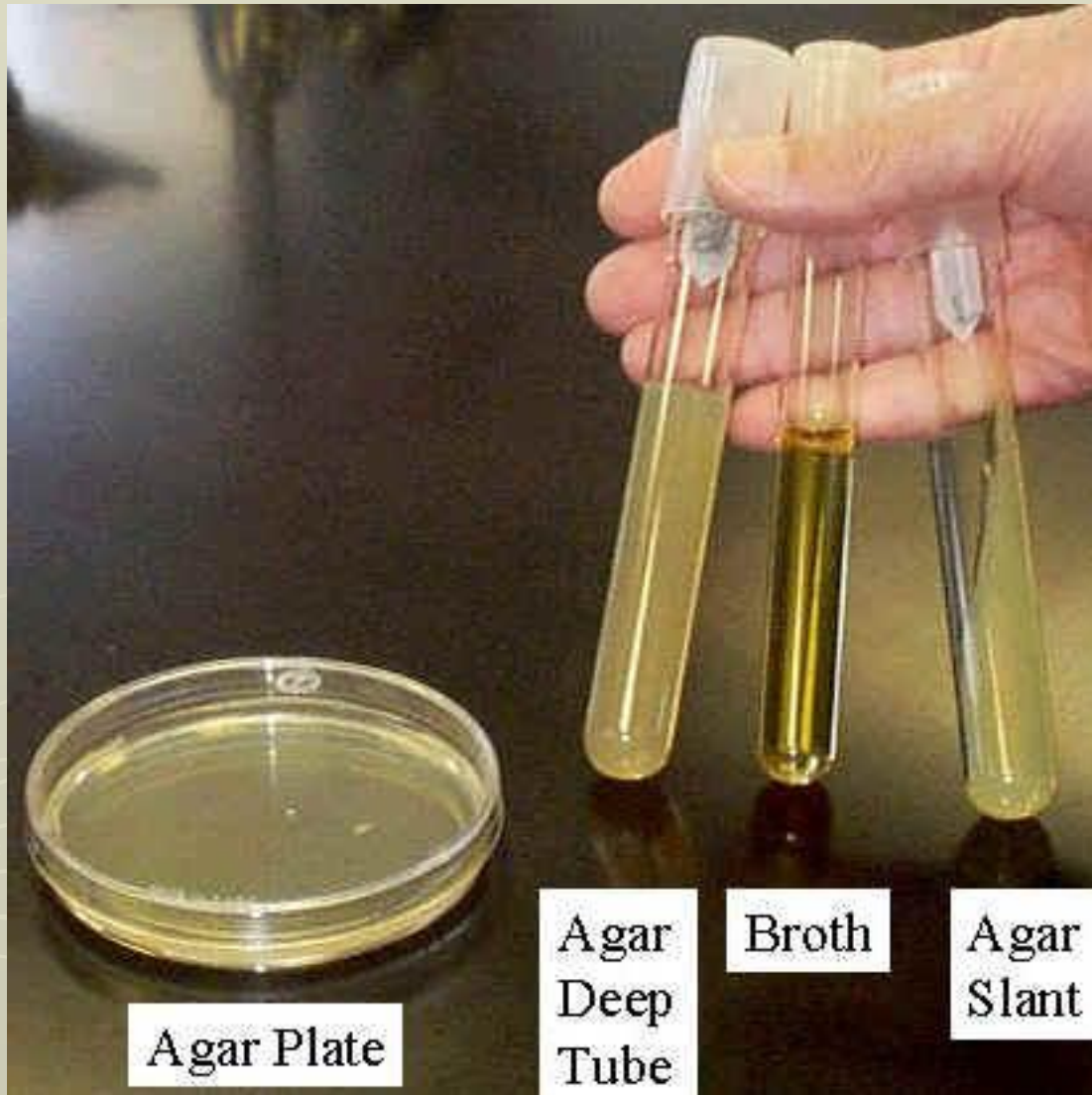
► По консистенции

- **Жидкие** – мясной или рыбный бульон на дистиллированной воде (Питательный бульон),
- **Плотные** – готовятся на основе жидких, добавляют 1,5% *агар-агара* (полисахарид, получ-й из морских водорослей), *силикагеля* или 10-15% *желатины* (Питательный агар)
- **Полужидкие** – готовят на основе жидких, но агар-агара или силикагеля добавляют 0,7%, а желатины – 5-7,5%

Классификация искусственных питательных сред

► По назначению

- **Консервирующие** – применяются для предотвращения отмирания бактерий в патологическом материале (Глицериново-солевая смесь),
- **Основные** – применяются для культивирования большинства бактерий (Питательные бульон и агар),
- **Элективные** – обеспечивают оптимальные условия для выращивания одного вида бактерий (Желточно-солевой бульон для стафилококка, желчный бульон для сальмонелл),
- **Дифференциально-диагностические** – применяются для изучения биохимических свойств при идентификации бактерий (Среды Гисса, Ресселя, Эндо)



Методы выделения чистых культур аэробов

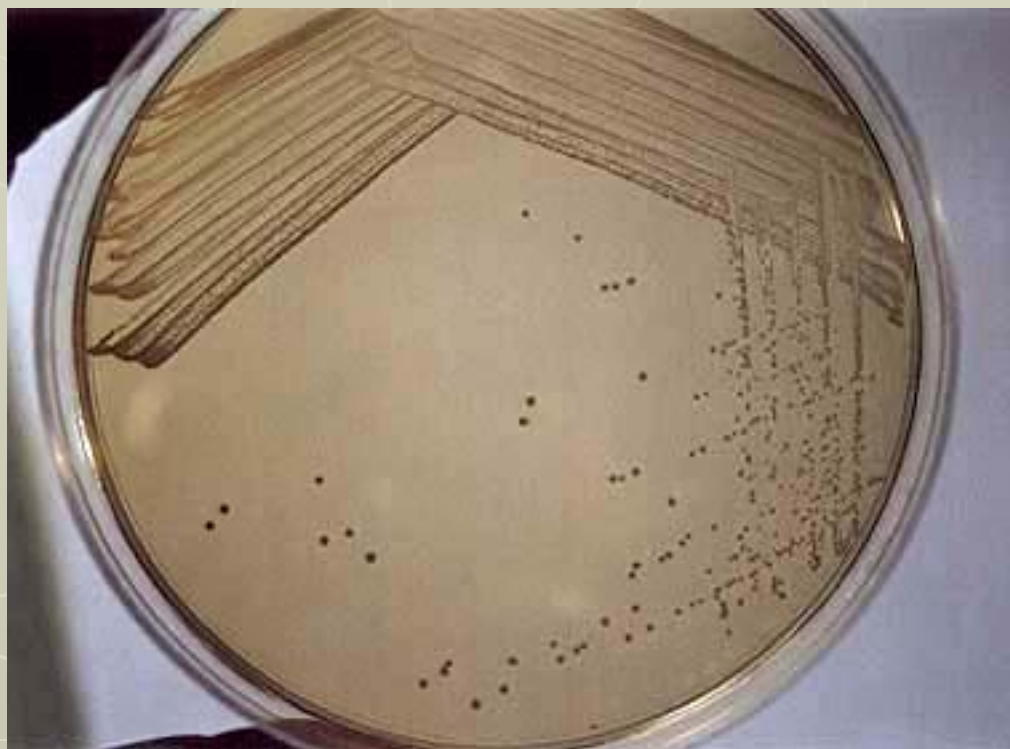
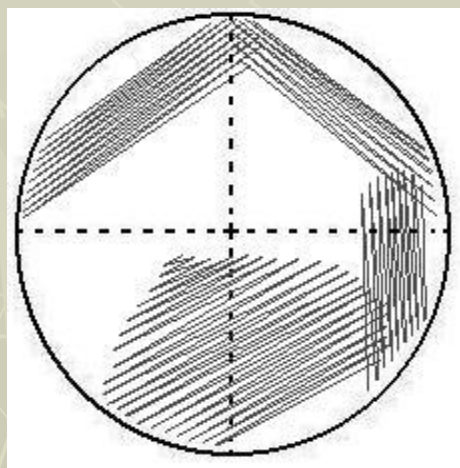
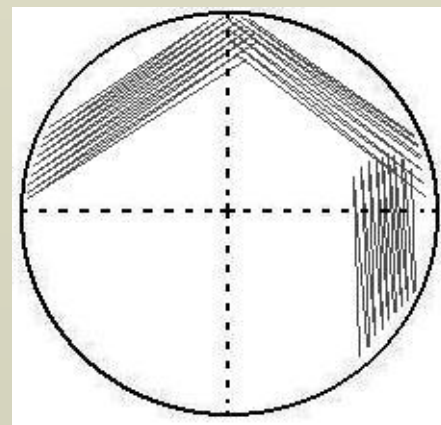
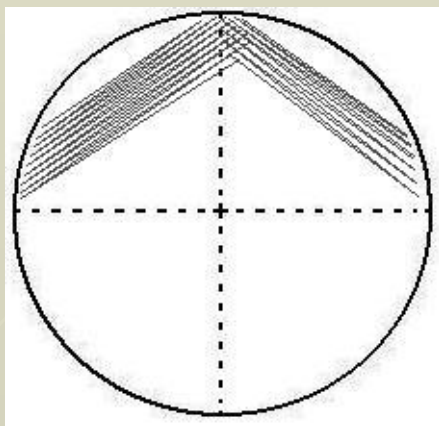
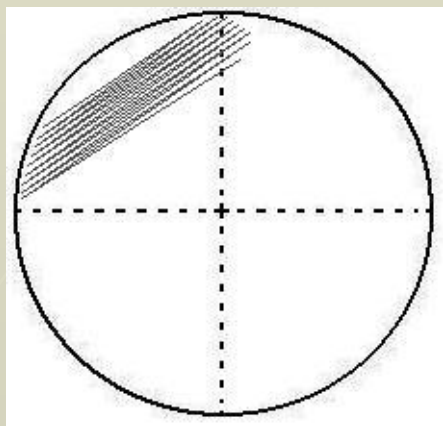


Методы выделения чистых культур аэробов

- ▶ 1. **Механическое разобщение клеток:**
- ▶ а) **метод Коха:** готовят десятикратные разведения материала в хлориде натрия, из каждого разведения 1 петлю вносят в пробирку с агаром (40⁰) и выливают его в чашку Петри;
- ▶ б) **метод Дригальского:** 1 петлю материала наносят на поверхность агара в чашку Петри и растирают шпателем, затем, не прожигая его, растирают по поверхности агара второй, а затем третьей чашки и т.д;

Методы выделения чистых культур аэробов

- ▶ 1. **Механическое разобщение клеток:**
- ▶ в) *механическое разобщение петлей;*
- ▶ г) *количественный метод Голда:* 1 мл жидкого или 1 г твердого материала вносят в 9 мл NaCl, затем 1 петлю материала наносят на чашку = делают 40 штрихов (сектор А), задевая штрихи сектора А, проводят 4 штриха (1-й сектор), аналогично засевают 2-й и 3-й секторы



Методы выделения чистых культур аэробов

- ▶ **2. Предварительная обработка материала с помощью физических или химических факторов.**
- ▶ Например: 1) неспорообразующие бактерии уничтожают **прогреванием при 80 °C 20 мин**, споры при этом сохраняются;
- ▶ 2) для выделения микобактерий материал обрабатывают **кислотой**, при этом сопутствующая флора погибает

Методы выделения чистых культур аэробов

- ▶ 3. Избирательное подавление сопутствующих бактерий физическими или химическими факторами во время инкубации посевов.

Например: для выделений иерсиний **чумы** посевы инкубируют при $T=5^{\circ}$

- ▶ 4. Заражение чувствительных животных = для выделения возбудителя **чумы** из трупов грызунов

- ▶ 5. Использование биологических свойств бактерий. Например: метод Шукевича для выделения **протея** (ползучий рост).