

**Бактериологическая лаборатория и
правила работы в ней. Классификация
микроорганизмов. Морфология бактерий.
Методы определения вида бактерий.
Бактериоскопический метод**

@usmu_preuniversity

Бактериологическая лаборатория и правила работы в ней

Бактериологическая лаборатория



Бактериологическая лаборатория

Бактериологические лаборатории организованы при центрах санитарно-эпидемиологического надзора, в инфекционных больницах, больницах общего типа, некоторых специализированных стационарах (например, в туберкулезных, ревматологических, кожно-венерологических), в поликлиниках

Бактериологическая лаборатория

Объектами исследования в бактериологических лабораториях являются:

- **Выделения из организма:** моча, кал, мокрота, гной, а также кровь, патологический и трупный материал.
- **Объекты внешней среды:** вода, воздух, почва, смывы с предметов инвентаря, продукты питания, сельскохозяйственное и технологическое сырьё.

Бактериологическая лаборатория

Специфика микробиологических работ требует, чтобы помещение, отведенное под лабораторию, было изолировано от жилых комнат, пищевых блоков и других непрофильных производственных помещений

Бактериологическая лаборатория

В состав бактериологической лаборатории входят:

- комната приема и регистрации материалов;
- лабораторные комнаты для бактериологических исследований и подсобные помещения;
- автоклавная или стерилизационная для обеззараживания отработанного материала и зараженной посуды;
- моечная, оборудованная для мытья посуды;
- виварий для содержания подопытных животных;
- материальная для хранения запасных реактивов, посуды, аппаратуры и хозяйственного инвентаря

Бактериологическая лаборатория

Помещения микробиологических лабораторий по степени опасности для персонала разделяются на 2 зоны:

«Заразная» зона - помещение или группа помещений лаборатории, где осуществляются манипуляции с патогенными биологическими агентами и их хранение, персонал одет в соответствующий тип защитной одежды.



Бактериологическая лаборатория

- Там оборудуют застекленный бокс - изолированное помещение с тамбуром (предбоксом) для выполнения работ в асептических условиях.
- Окна и двери помещений "заразной" зоны должны быть герметичными.
- Имеющаяся вытяжная вентиляция из "заразной" зоны должна быть изолирована от других вентиляционных систем и оборудована фильтрами тонкой очистки воздуха.



Бактериологическая лаборатория

«Чистая» зона - помещения, где не проводят работу с биологическим материалом



Формы микроорганизмов

1. Неклеточные формы: прионы, вириоды, вирусы.

2. Клеточные формы:

2.1 Прокариоты

Домен *Bacteria*

Бактерии с тонкой клеточной стенкой (Гр-)

Бактерии с толстой клеточной стенкой (Гр+)

Микоплазмы (без клеточной стенки)

Домен *Archaea*

2.2 Эукариоты: простейшие, грибы

Прионы

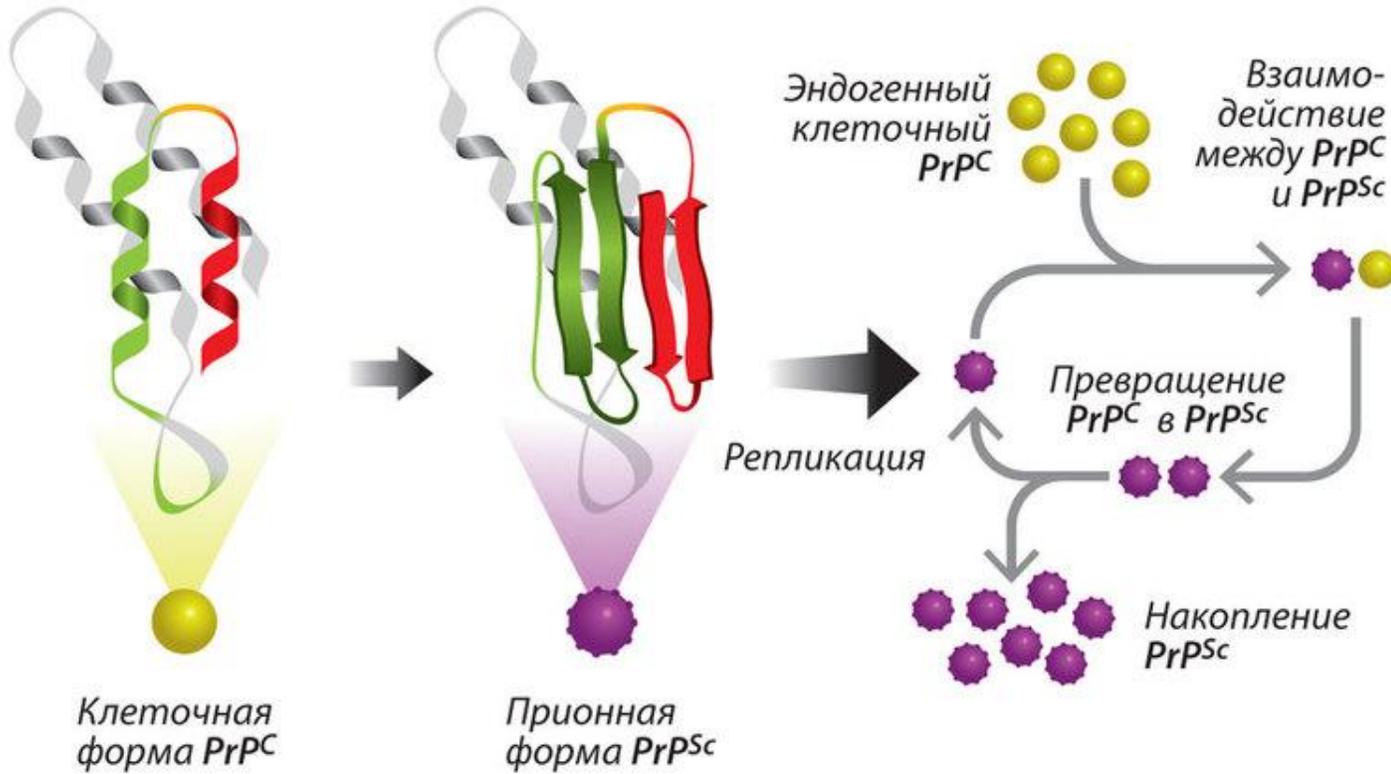
(англ. *prion* от *protein* «белок» + *infection* «инфекция») — особый класс инфекционных патогенов, представленных белками с аномальной третичной структурой, не содержащими нуклеиновые кислоты

Прионы способны увеличивать свою численность, используя функции живых **клеток** (в этом отношении прионы схожи с **вирусами**).

Прион способен **катализировать конформационное** превращение **гомологичного** ему нормального клеточного белка в себе подобный (прион).

Появившиеся в результате такого перехода прионы могут в свою очередь перестраивать новые молекулы белка; таким образом, запускается **цепная реакция**, в ходе которой образуется огромное количество неправильно свёрнутых молекул.

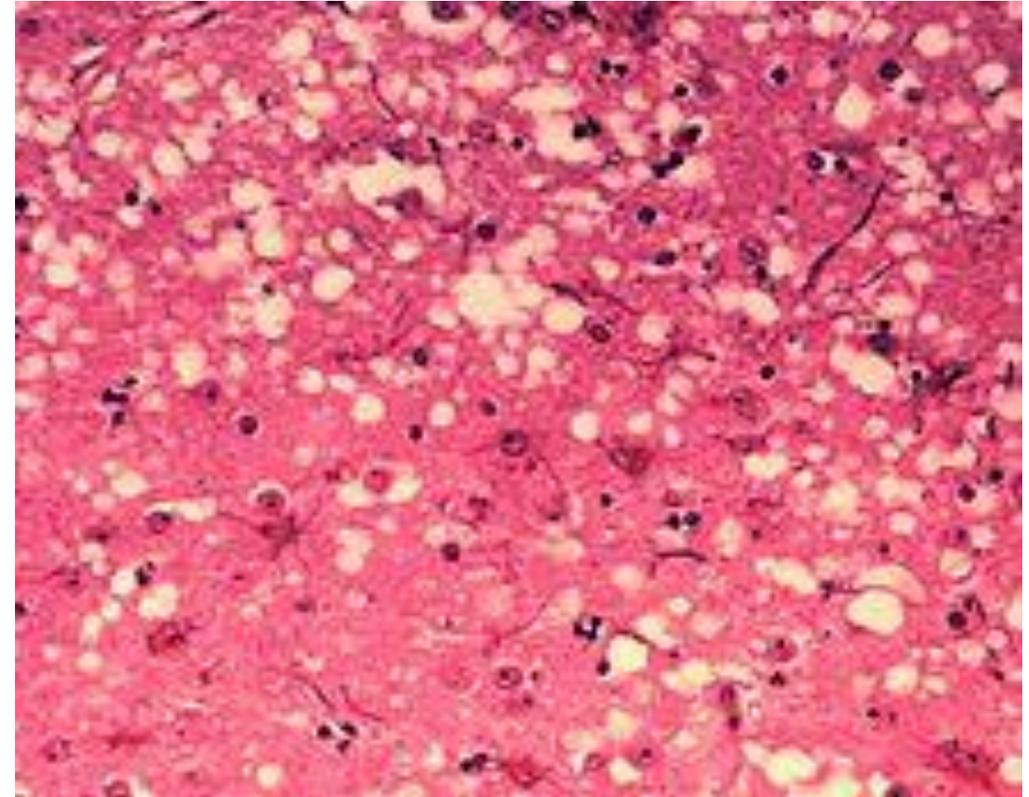
Прионы — единственные известные инфекционные агенты, размножение которых происходит без участия нуклеиновых кислот.



- Прионы способны увеличивать свою численность, используя функции живых **клеток** (в этом отношении прионы схожи с **вирусами**). Прион способен **катализировать конформационное** превращение **гомологичного** ему у нормального клеточного белка в себе подобный (прион).
- Появившиеся в результате такого перехода прионы могут в свою очередь перестраивать новые молекулы белка; таким образом, запускается **цепная реакция**, в ходе которой образуется огромное количество неправильно свёрнутых молекул.
- Прионы — единственные известные инфекционные агенты, размножение которых происходит без участия нуклеиновых кислот.

- Все известные прионы вызывают формирование амилоидов — белковых агрегатов.
- Амилоиды представляют собой фибриллы, растущие на концах, а разлом фибриллы приводит к появлению четырёх растущих концов. Инкубационный период прионного заболевания определяется скоростью экспоненциального роста количества прионов, а она, в свою очередь, зависит от скорости линейного роста и фрагментации агрегатов (фибрилл).

- Прионы вызывают нейродегенеративные заболевания, так как образуют внеклеточные скопления в центральной нервной системе и формируют амилоидные бляшки, которые разрушают нормальную структуру ткани. Разрушение характеризуется образованием «дыр» (полостей) в ткани, и ткань принимает губчатую структуру из-за формирования вакуолей в нейронах



Ку́ру

Слово «куру» на языке племени форе имеет два значения — «дрожь» и «порча». Члены племени форе верили, что болезнь является результатом сглаза чужим шаманом.



Ребёнок на тяжёлой стадии болезни куру. Он не мог ни стоять, ни сидеть без поддержки

Фатальная семейная бессонница

Оказалось, что в кодоне 178 гена PRNP, находящегося в 20-й хромосоме, аспарагиновая кислота заменена на аспарагин. В результате форма белковой молекулы изменяется, и она из нормального превращается в болезнетворный прион. Под воздействием аномального приона другие нормальные белковые молекулы тоже превращаются в болезнетворные прионные.

Это приводит к накоплению амилоидных бляшек в таламусе, отделе мозга, отвечающем за сон. Вначале амилоидные бляшки вызывают бессонницу, потом ещё более серьёзные проблемы, и, наконец, смерть.

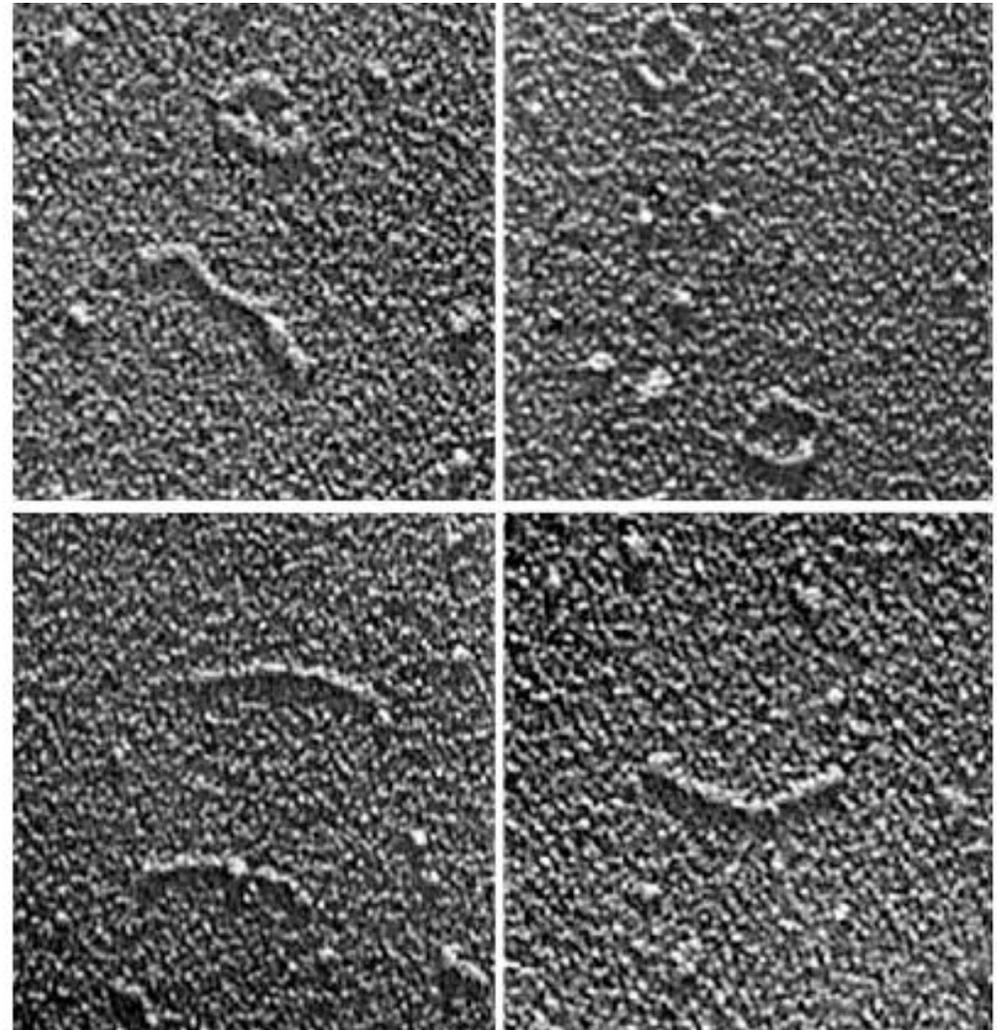
Вироиды

инфекционные агенты, состоящие только из кольцевой РНК. Они вызывают различные болезни растений, в том числе веретеновидность клубней картофеля, экзокортис цитрусовых и карликовость хризантемы. По оценкам учёных, более трети вирусных заболеваний растений вызываются виroidами.



низкомолекулярная
одноцепочечная кольцевая
РНК, не кодирующая
собственные белки

Вызывают болезни растений
вируиды → в клетки
растений → синтез
вируидных РНК с
использованием ферментов
растений-хозяев



Классификация бактерий

- Класс
- Порядок
- Семейство
- Род (морфологический признак – форма, размер, особенность строения клеток; фамилия учёного)
- Вид (признак колоний – цвет, размер, форма колоний; среда обитания микроорганизмов)

Escherichia coli

Staphylococcus aureus

- **Вид** – это группа близких между собой микробов, имеющих общее происхождение, сходные морфологические, биохимические и физиологические признаки, приспособленные к определенной среде обитания.
- **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 некоторым признакам (например, по чувствительности к антибиотикам, способности синтезировать некоторые ферменты и т. д.).
- **Клон** (греч. klon - отводок) - это культура микробов, полученная в результате размножения на питательной среде одной бактериальной материнской клетки определенного вида (потомство одной клетки).

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**).

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.**

Выделяют три основные формы бактерий:

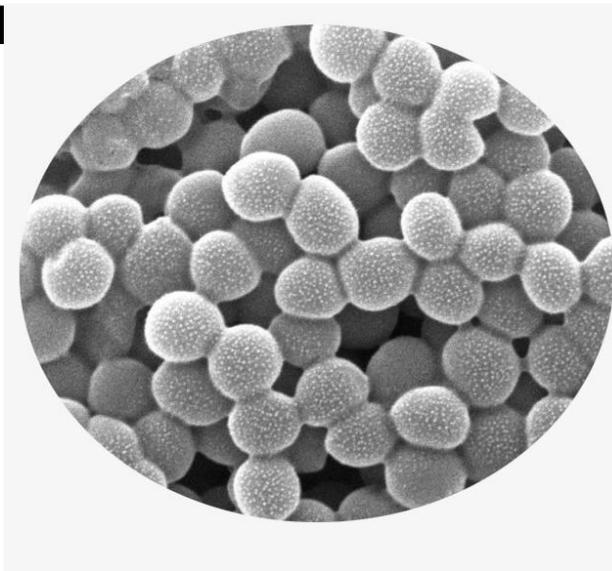
- шаровидные или сферические бактерии (**кокки**);
- палочковидные бактерии;
- изогнутые и извитые бактерии (спиралевидные, вибриоидные).

Кроме этих форм обнаруживаются ветвящиеся, нитевидные, треугольные и звездообразные бактерии. Бактериальные клетки могут располагаться не только одиночно, но и образовывать скопления

Сферические формы бактерий (кокки)

Представляют собой **шаровидные, овальные** (эллипсоидные), **бобовидные** бактерии размером 0,5-1,0 мкм.

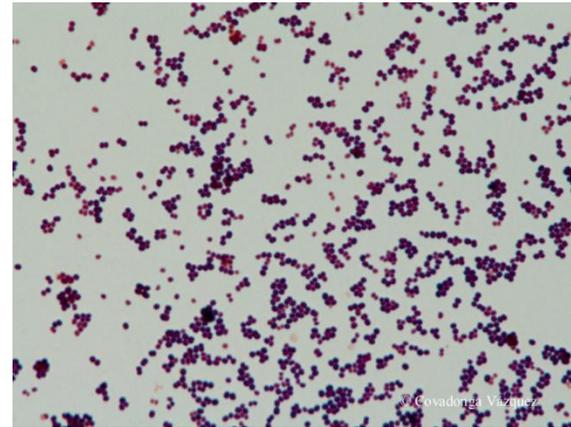
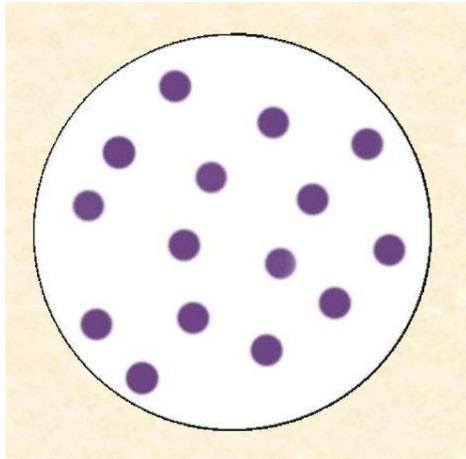
К шаровидным бактериям относятся **микрококки, диплококки, стрептококки, сарцины и стафилококки.**



Шаровидные бактерии. Электронная микрофотография

Сферические формы бактерий (кокки)

- **Микрококки** – это шаровидные клетки, располагающиеся отдельно друг от друга. В большинстве случаев микрококки являются представителями сапрофитной микрофлоры.



Схематическое изображение микрококков и их расположение в мазке (окраска по Граму)

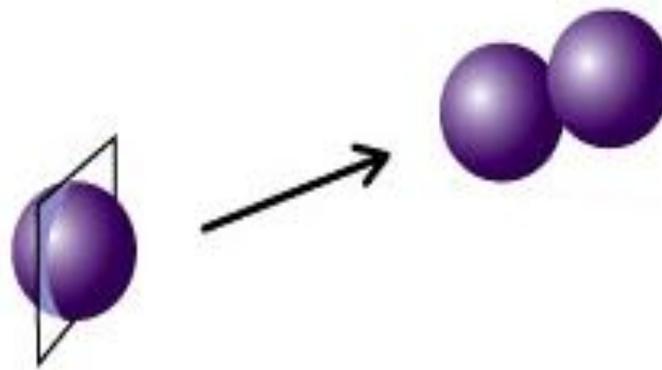
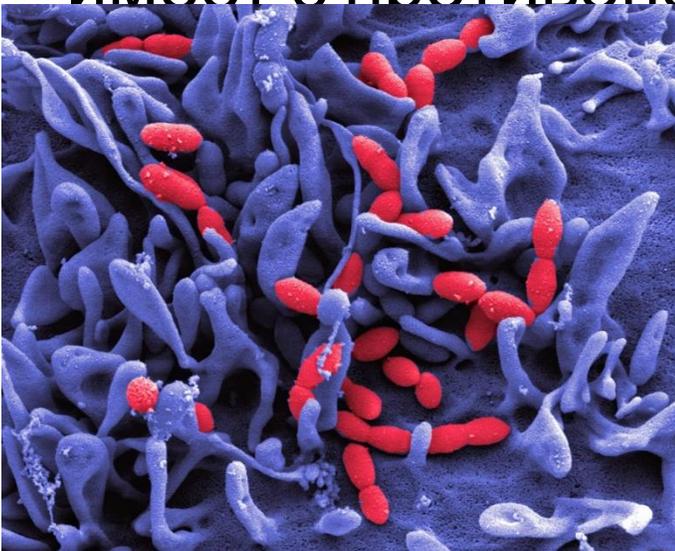
Микрококки могут быть обнаружены на коже, в ротовой полости, дыхательных путях человека и животных, иногда на конъюктиве и половых органах. Патогенных видов нет.

Сферические формы бактерий (кокки)

- **Диплококки** - это кокки, состоящие из двух особей, которые после деления клетки не расходятся.

К диплококкам относятся **пневмококки, гонококки, менингококки**.

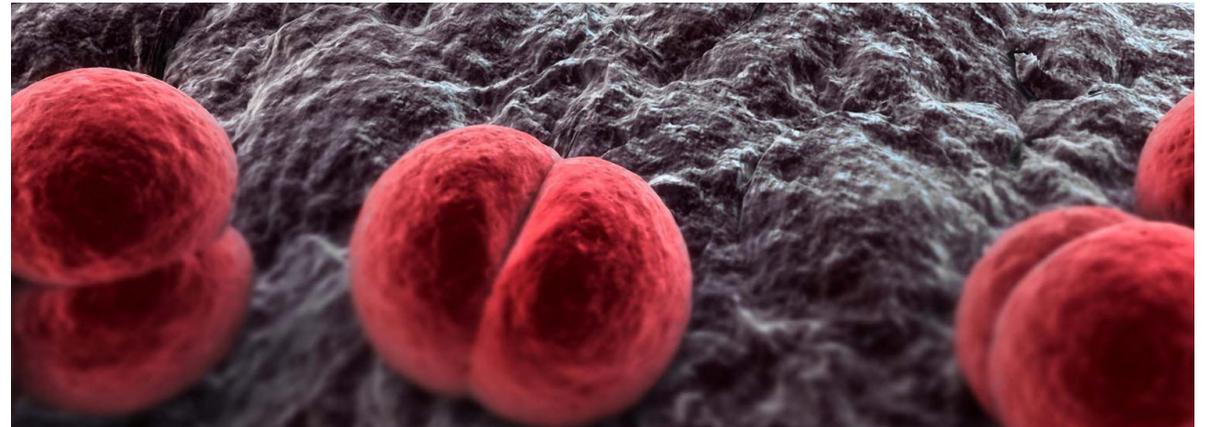
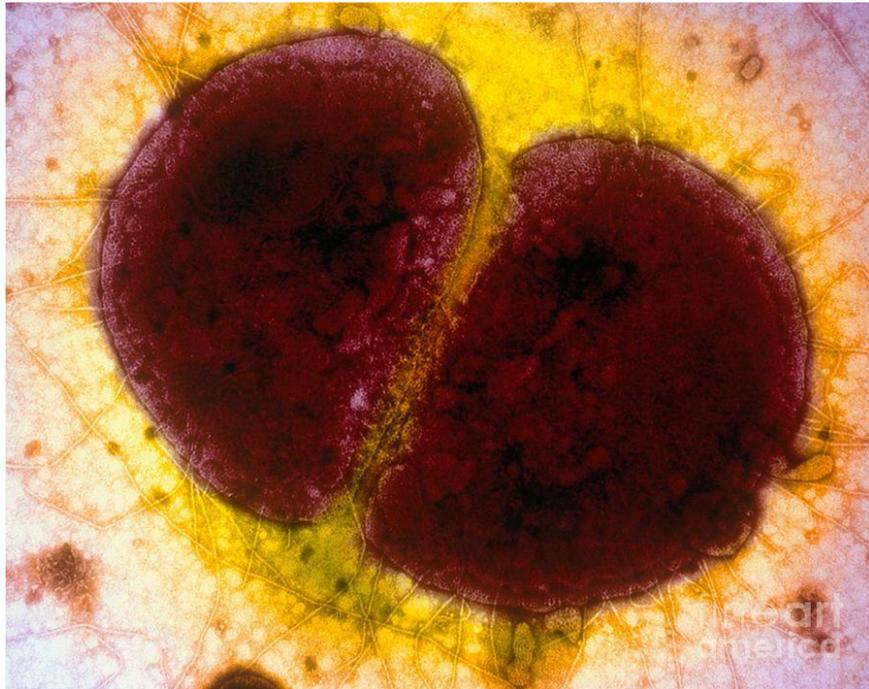
Пневмококк (возбудитель пневмонии, *Streptococcus pneumoniae*) имеет с противоположных сторон ланцетовидную форму



Neisseria meningitidis

Сферические формы бактерий (кокки)

- **Гонококк** (возбудитель гонореи, *Neisseria gonorrhoeae*) и **менингококк** (возбудитель менингита, *Neisseria meningitidis*) имеют форму кофейных зерен, обращенных вогнутой поверхностью друг к другу.



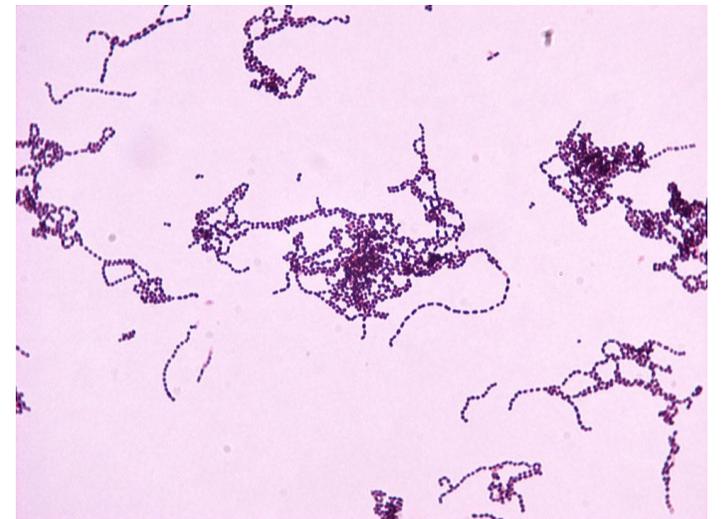
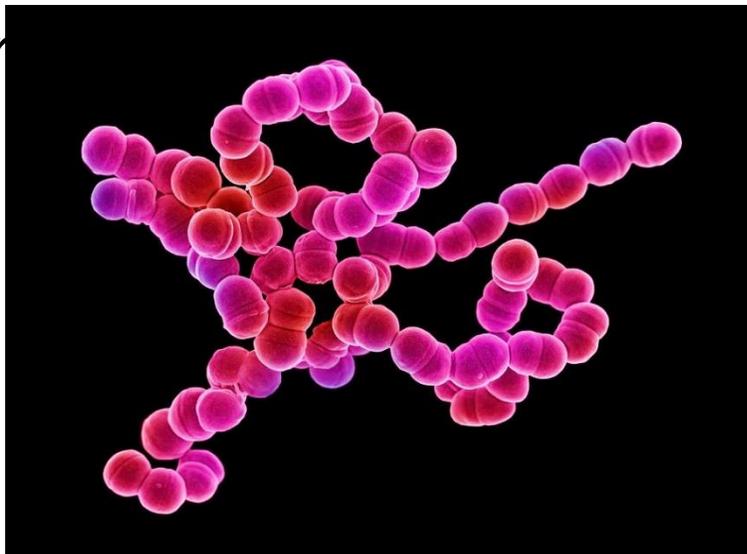
Сферические формы бактерий

(кокки)

- **Стрептококки** - это клетки округлой формы, располагающиеся в виде цепочки. Такая цепочка образуется при делении клеток в одной плоскости при сохранении связи между клетками.

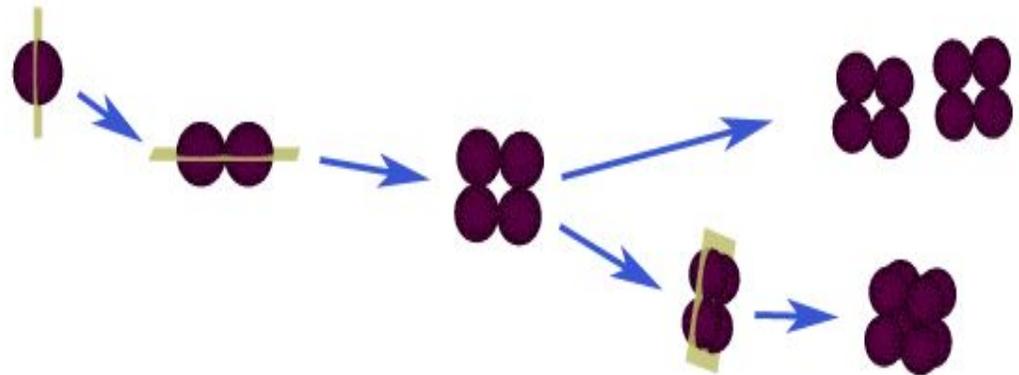
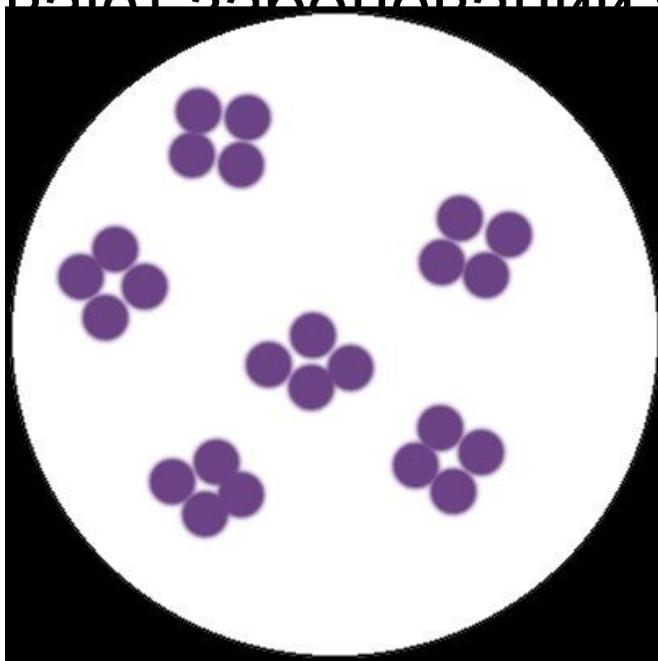
Среди стрептококков имеются представители **нормальной микрофлоры** организма человека, **условно-патогенные** и **патогенные** бактерии - возбудители инфекционных заболеваний человека (скарлатины, рожи, ангины и др.).

Str



Сферические формы бактерий (кокки)

- **Тетракокки** - это скопления из четырех клеток, образованные в результате деления в двух перпендикулярных плоскостях. Тетракокки обычно не вызывают заболеваний у человека

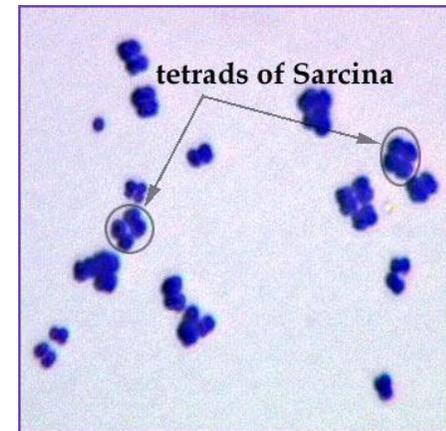
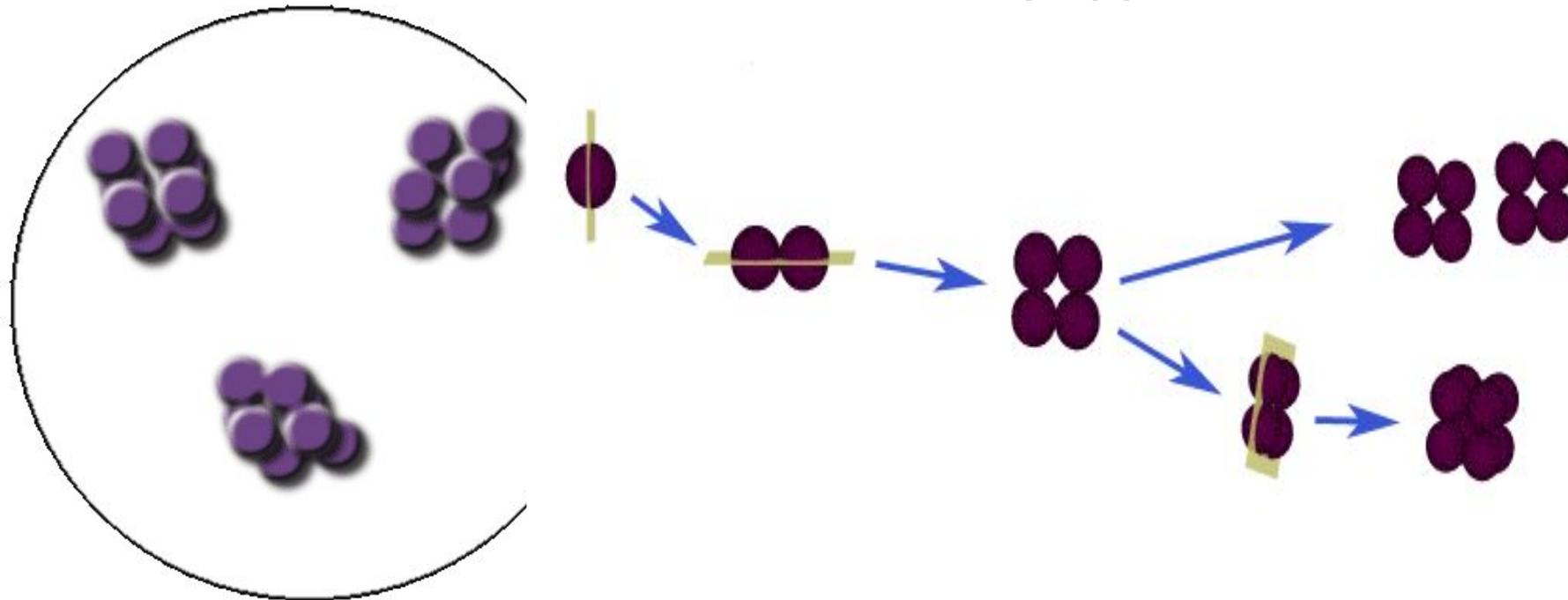


Сферические формы бактерий

(КОККИ)

- **Сарцины** представляют собой скопления клеток в виде пакетов из 8-16 особей. Такие скопления образуются в результате деления клеток в трех взаимно перпендикулярных плоскостях.

Сарцины являются в основном представителями микрофлоры

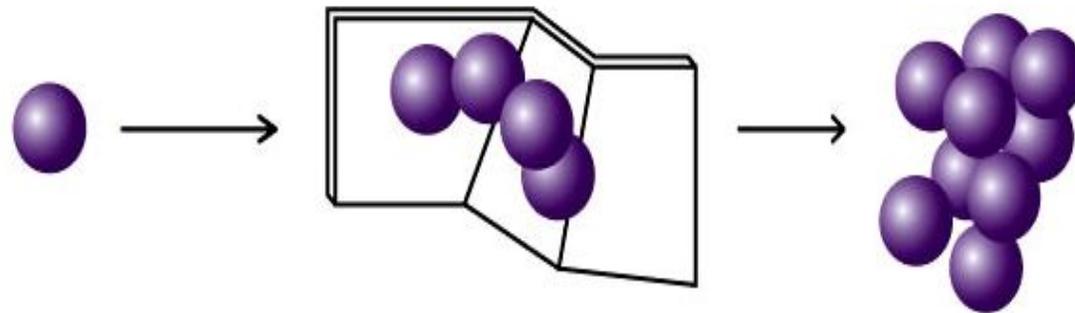
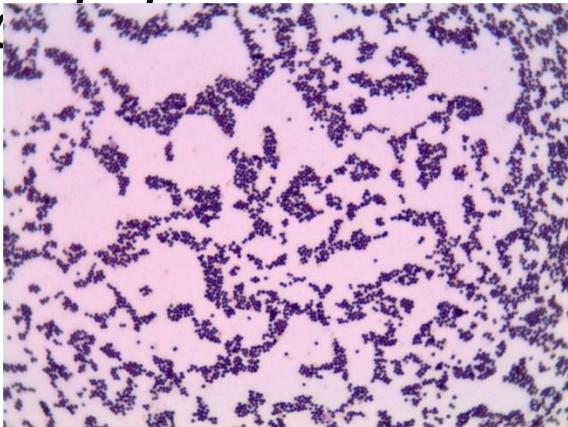


Сферические формы бактерий

(кокки)

- **Стафилококки** - это сферические клетки, расположенные в виде скопления, напоминающего грозди винограда. Такая форма образуется в результате деления клеток в разных плоскостях. Одни стафилококки являются **сапрофитными**, другие - **условно-патогенными**, а третьи – **патогенными** бактериями, вызывающими у человека гнойно-воспалительные заболевания (абсцессы, фурункулы, карбункулы и др.).

Staphylococcus



Палочковидные бактерии

- Представляют собой клетки цилиндрической формы, которые различаются по:
 - размерам (длине и толщине),
 - взаимному расположению (в цепочке, под углом друг к другу),
 - форме концов клетки (обрубленные, заостренные, закругленные),
 - способности к спорообразованию.
- Длина клеток варьирует от 1,0 до 10 мкм, толщина - от 0,5 до 2,0 мкм.

По размерам палочковидные бактерии распределяются на:

- мелкие – до 1,5 мкм;
- средних размеров (1,5 – 3 мкм);
- крупные (более 3 мкм).

Палочковидные бактерии

- Палочки могут быть:
 - правильной (кишечная палочка и др.)
 - неправильной (коринебактерии и др.) формы, в том числе
 - ветвящиеся (актиномицеты).
 - обрубленные концы клеток наблюдаются у возбудителя сибирской язвы,
 - закругленные концы - у кишечной палочки,
 - заостренные - у фузобактерий,
 - утолщенные - у коринебактерии дифтерии.

Палочковидные бактерии

подразделяются на 2 группы:

- не образующие спор палочки;
- образующие споры палочки.

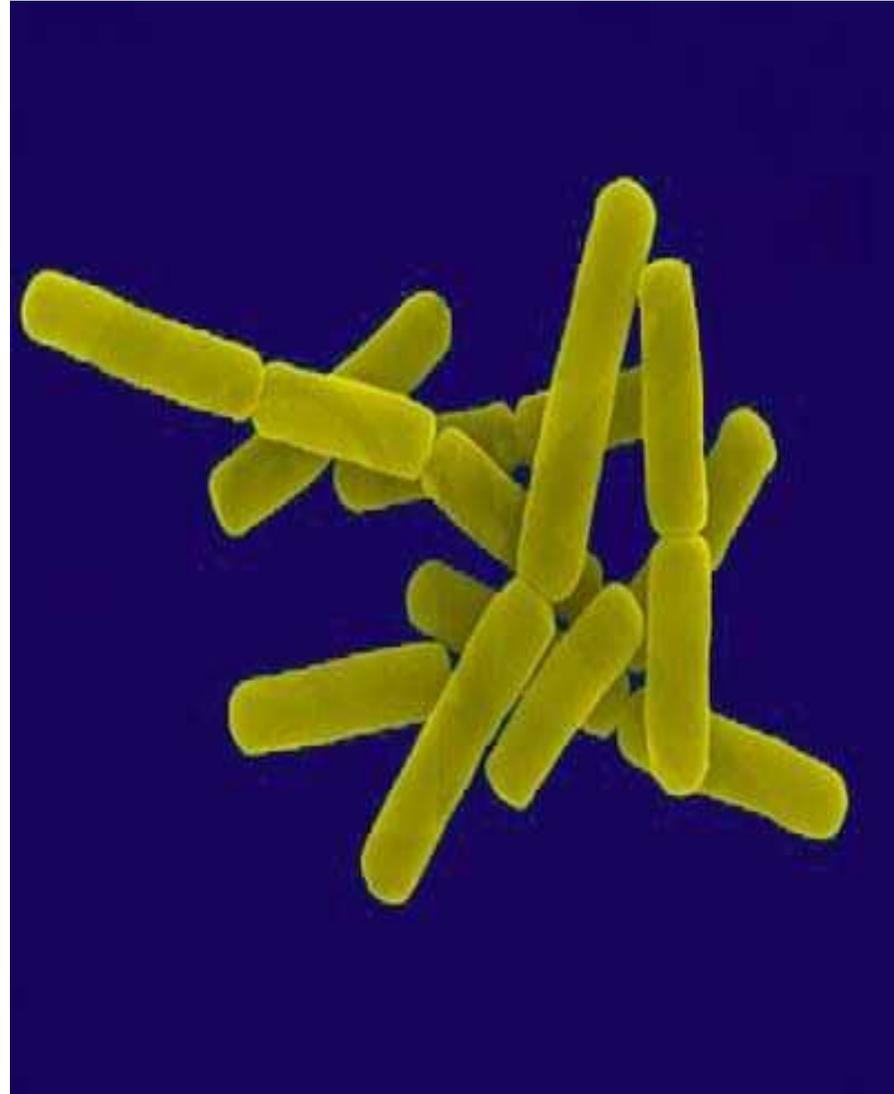
Палочковидные бактерии

- Спорообразующие бактерии, в свою очередь, подразделяются на **бациллы** и **кlostридии**.
- У бацилл поперечник образующейся споры не превышает диаметра вегетативной клетки. Поперечник спор у кlostридий превышает диаметр вегетативной клетки, что придает палочке форму веретена (лат. closter – веретено), барабанной палочки, теннисной ракетки. К бациллам относится возбудитель сибирской язвы, к кlostридиям - возбудители газовой гангрены, ботулизма, столбняка.

Clostridium

u

Bacillus

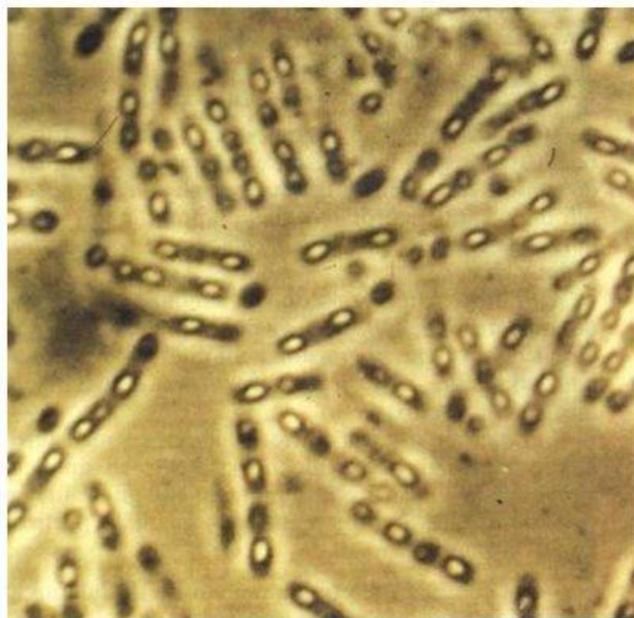


Палочковидные бактерии

Спорообразующие бактерии

Бациллы

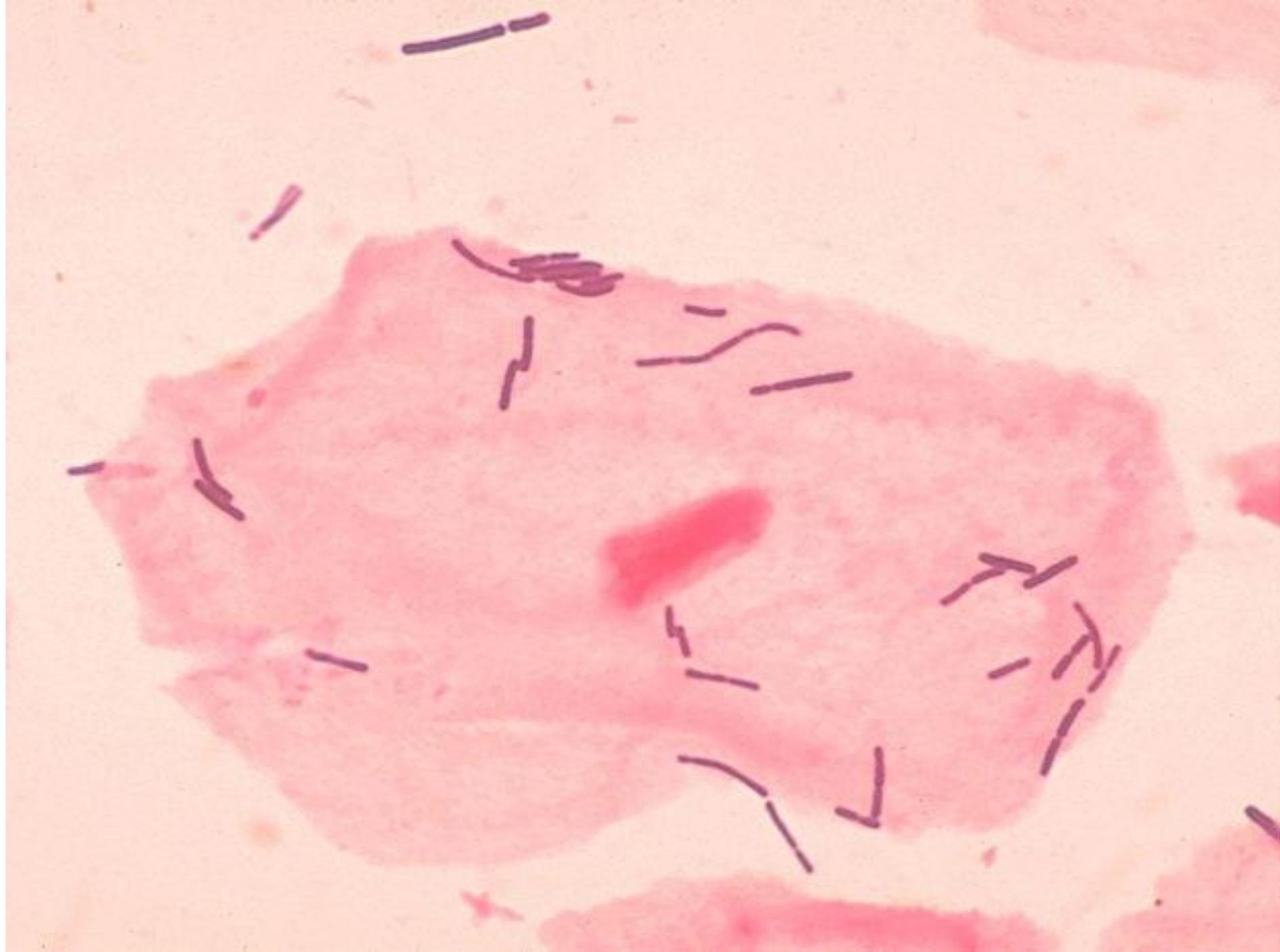
(спора меньше диаметра
клетки)



Клостридии

(спора больше диаметра
клетки)





По форме концов бактериальной клетки

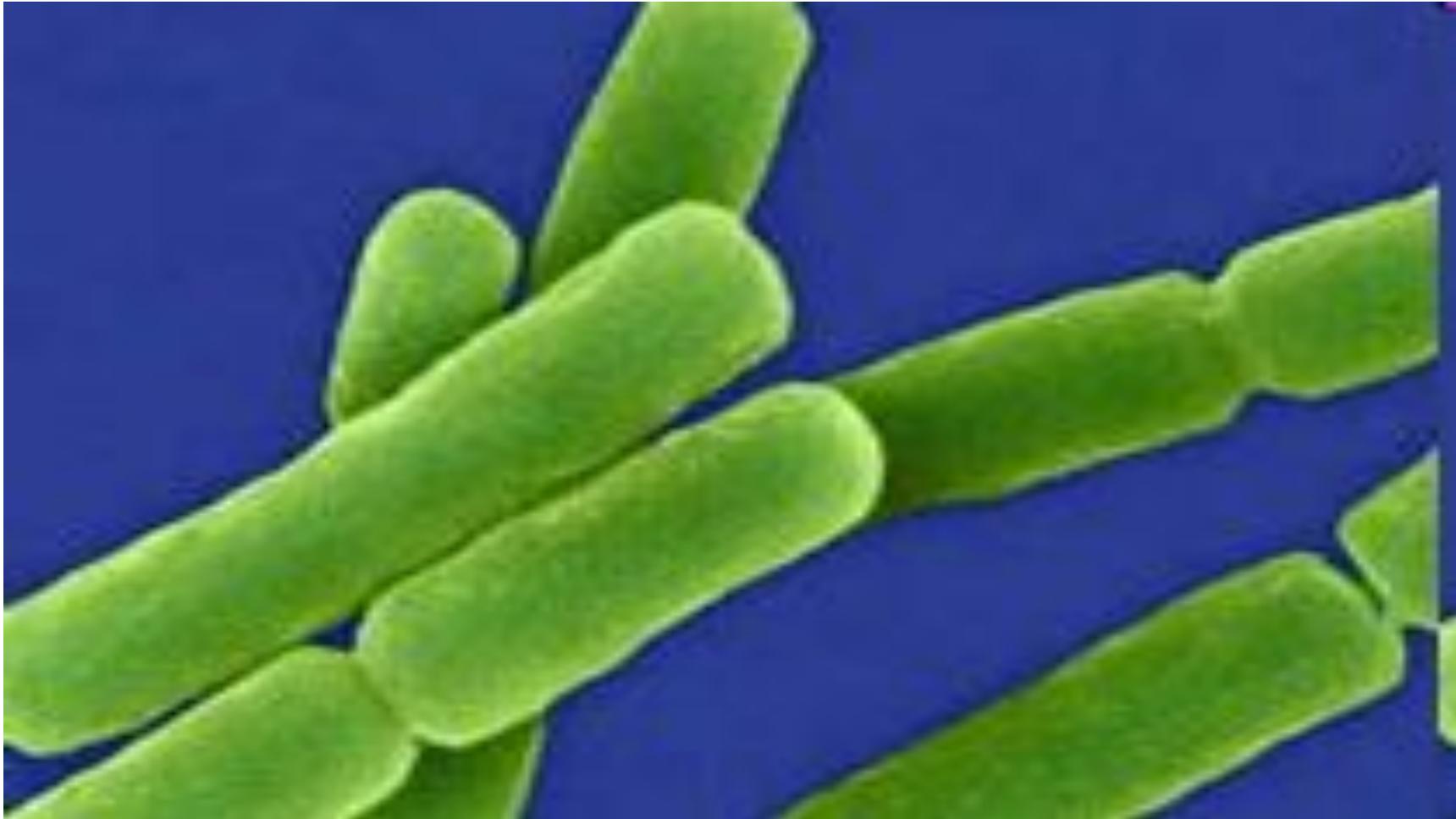
выделяют:

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

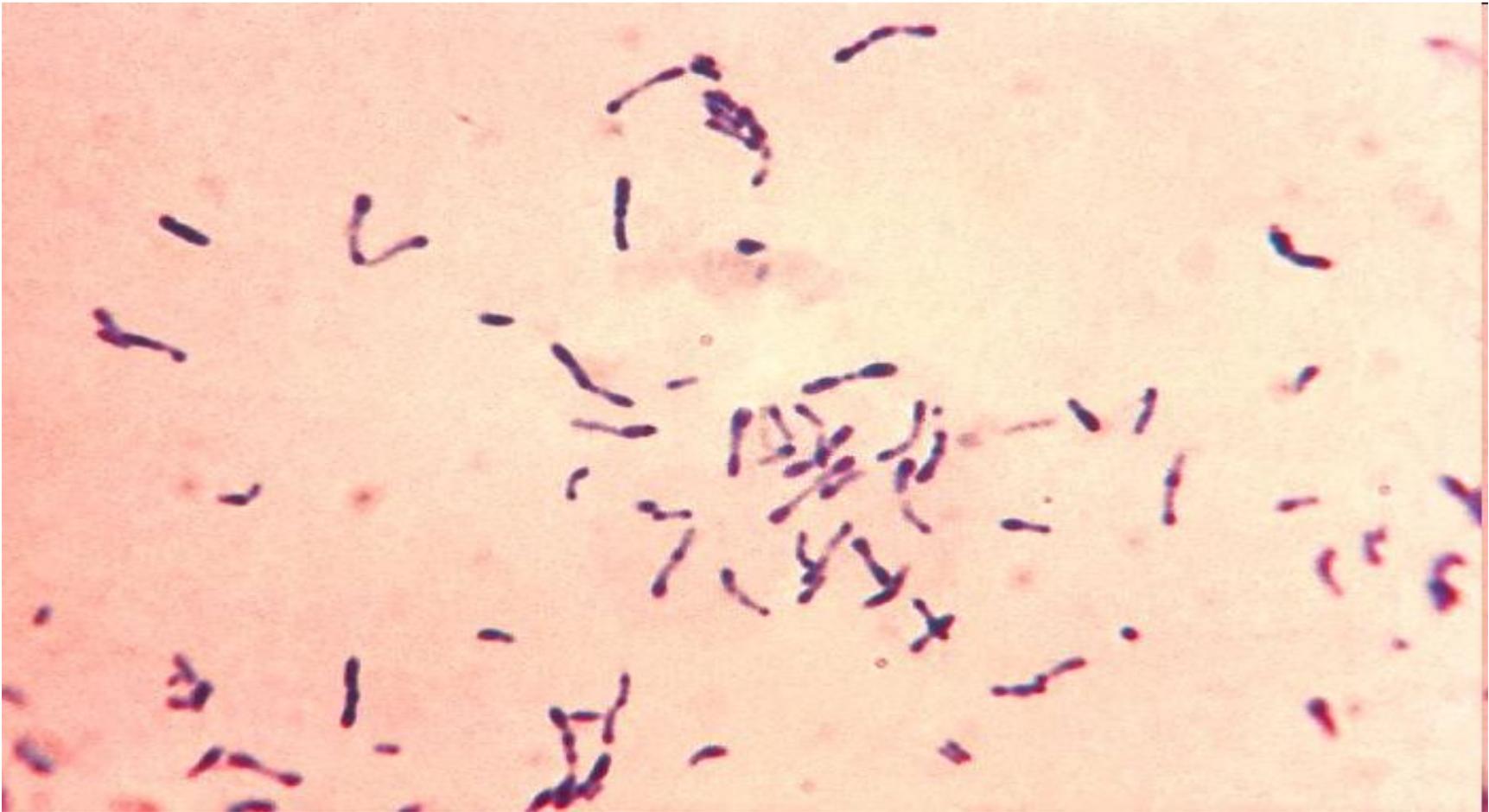
Escherichia coli
Т. Эшерих (1885)



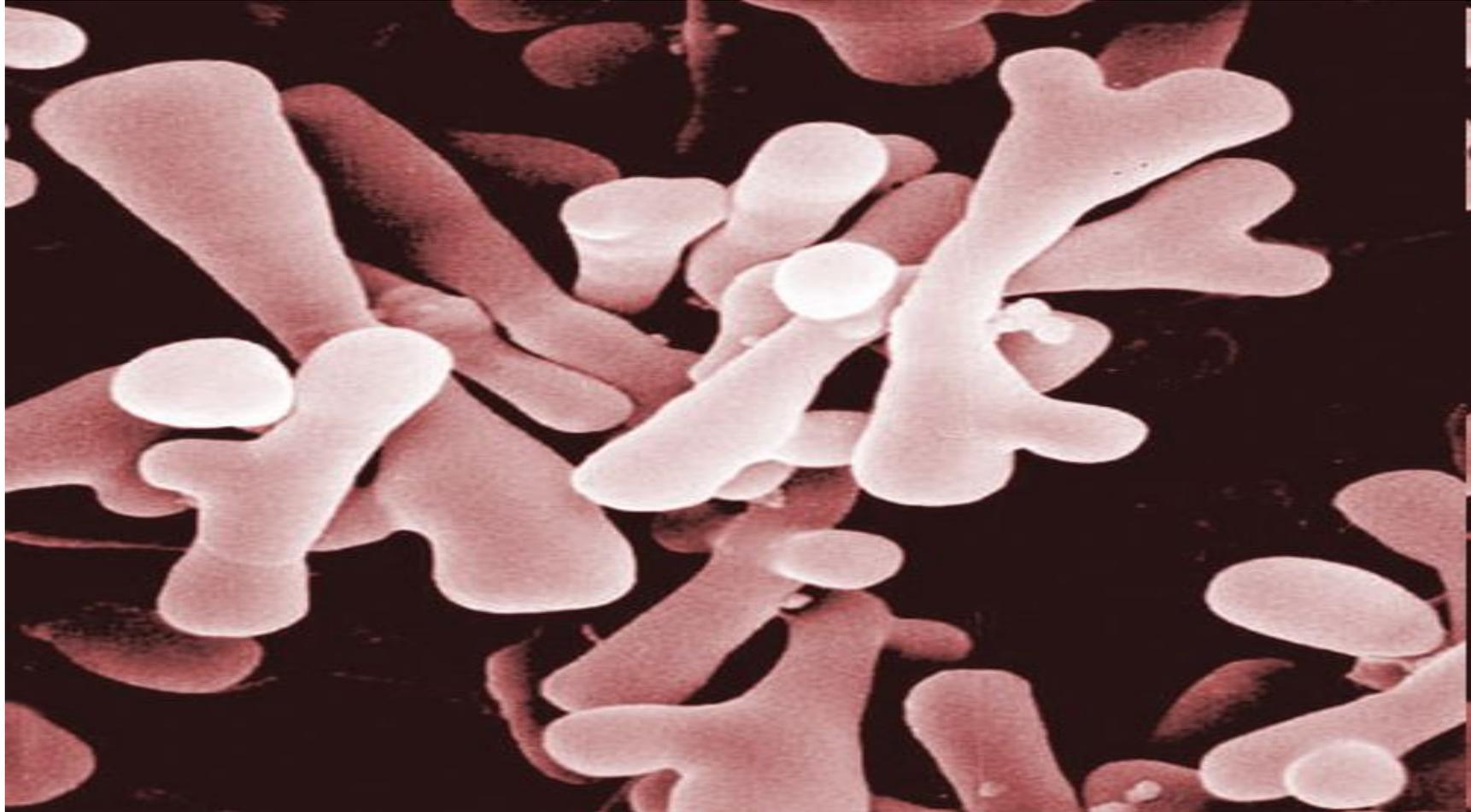
Bacillus anthracis



Corynebacterium diphtheriae



Bifidobacterium bifidum



Палочковидные бактерии

Стороны бактериальной клетки:

- параллельны, как в случае *Escherichia coli* или *Bacillus anthracis*
- выпуклы - похоже на бочонок *Yersenia pestis*
- вогнуты - *Corynebacterium diphtheria*

Yersenia pestis

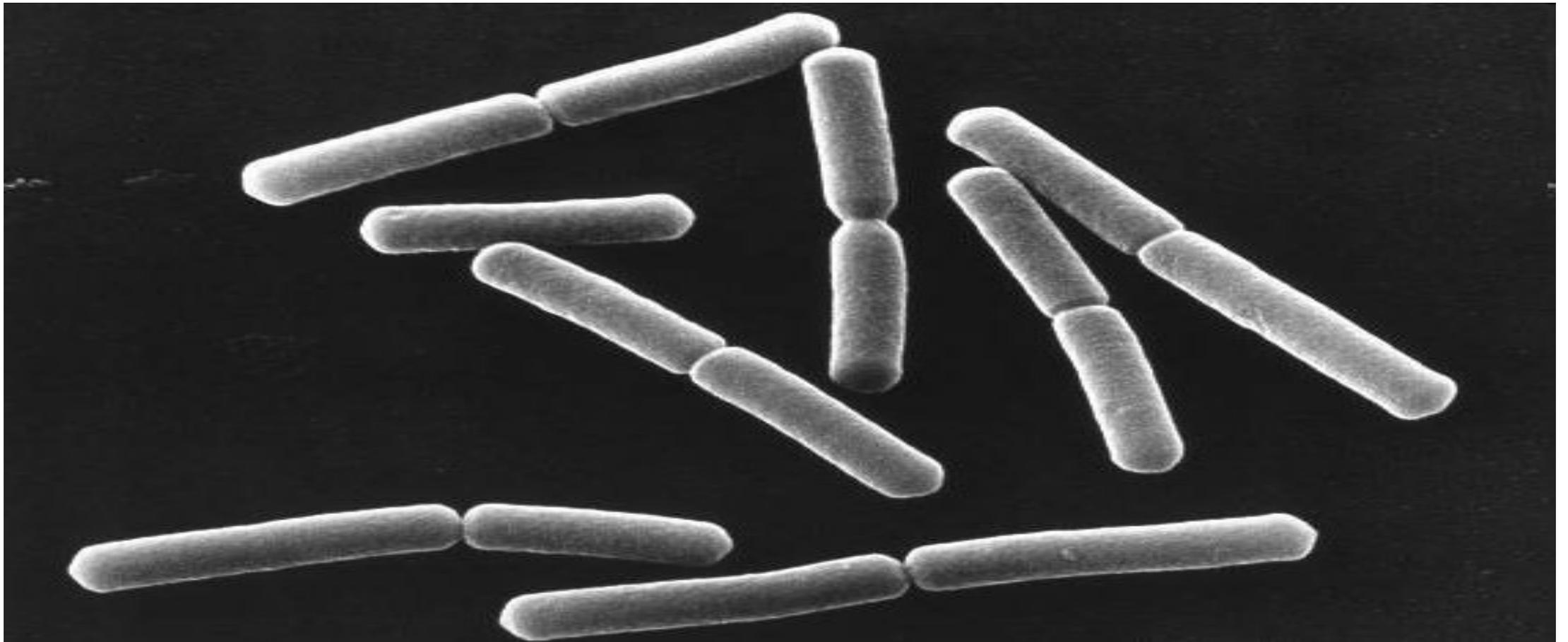


Палочковидные бактерии

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



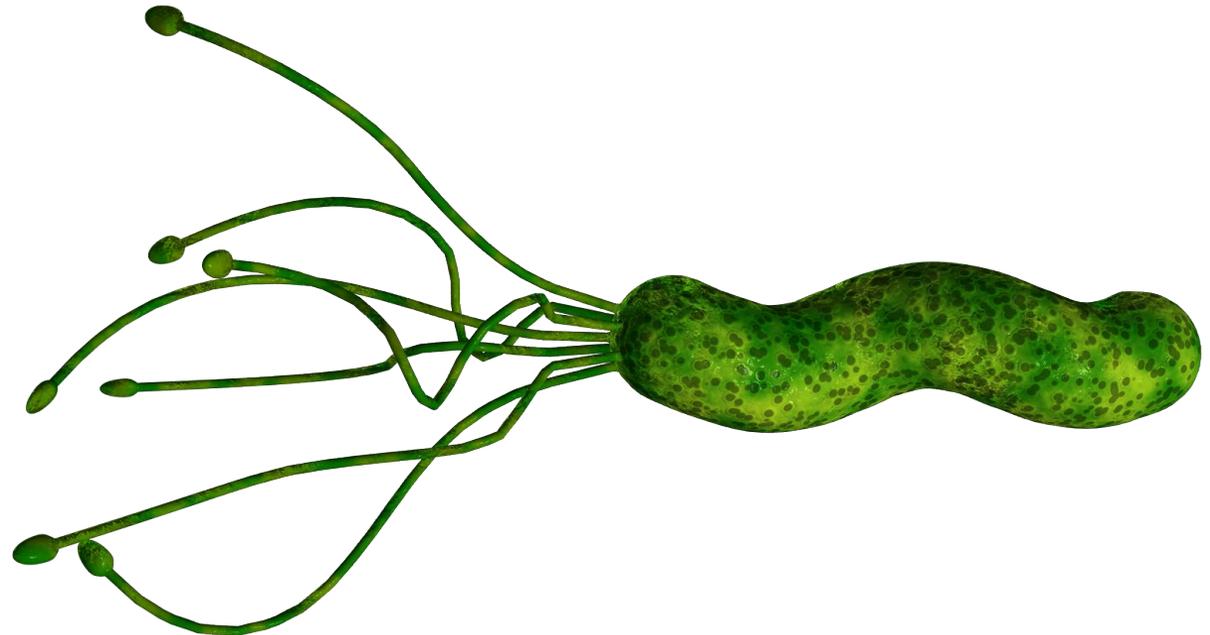
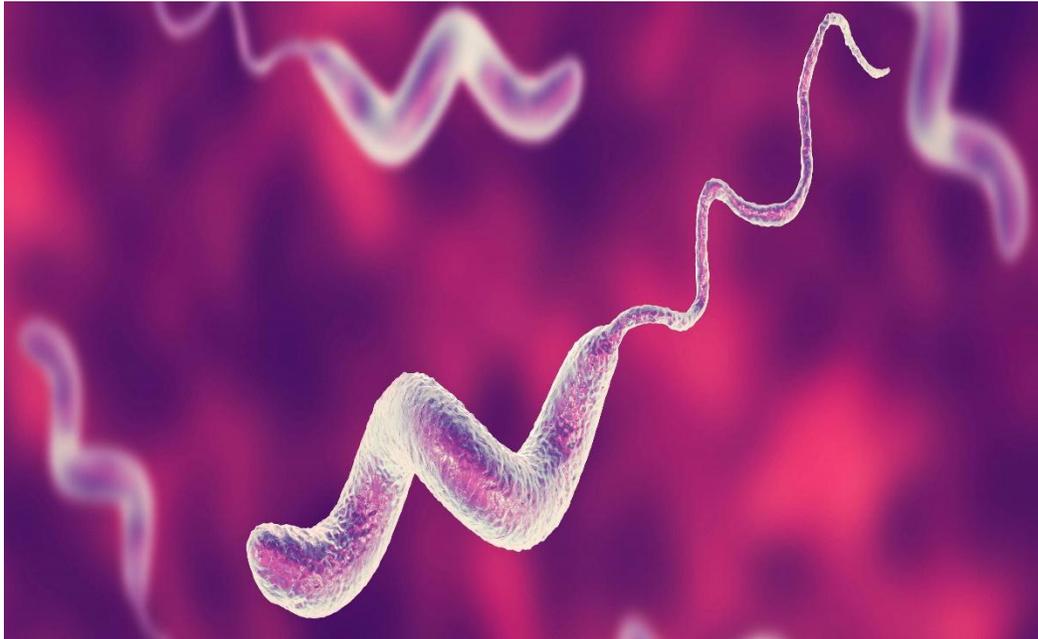
Холерный вибрион *Vibrio cholerae*

Изогнутые палочки называются **вибрионами** (лат. *vibrio* – изгибать).

Изогнутость тела вибриона не превышает одного оборота, поэтому клетка имеет форму запятой

Изогнутые и извитые бактерии (спиралевидные, вибриоидные)

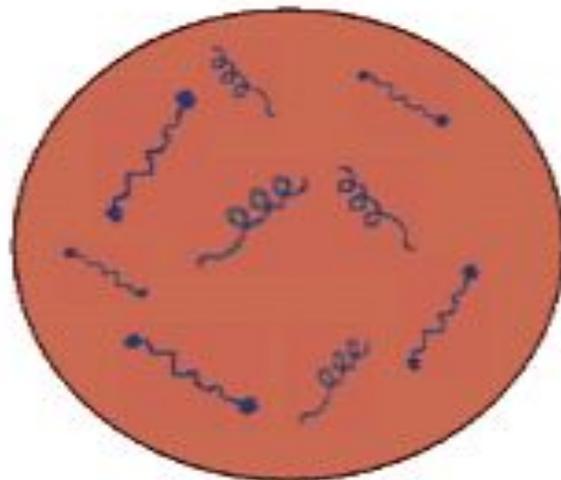
- К группе **спиралевидных** бактерий относятся представители родов *Campylobacter* и *Helicobacter*. Они имеют S-образную форму.



Изогнутые и извитые бактерии (спиралевидные, вибриоидные)

- Извитые бактерии выглядят в виде спирали, имеющей один или несколько оборотов. К извитым формам относятся **спириллы** и **спирохеты**.

Спириллы (лат. *spira* - изгиб, виток) имеют вид штопора с одним или несколькими завитками. Они являются неподвижными. К патогенным спириллам относится возбудитель содоку (с).



Изогнутые и извитые бактерии (спиралевидные, вибриоидные)

- **Спирохеты** (лат. *spira* – виток, спираль, *haite* - волос) представляют собой тонкие извитые бактерии. В отличие от спирилл спирохеты обладают подвижностью.

Патогенными для человека спирохетами являются представители родов *Treponema*, *Borrelia* и *Leptospira*.

Изогнутые и извитые бактерии (спиралевидные, вибриоидные)

- **Трепонема** (род *Treponema*) представляют собой извитые бактерии, имеющие 8-12 мелких завитков и 3-4 фибриллы. У человека трепонема вызывает сифилис (*T. pallidum*) и фрамбезию (*T. carterii*).



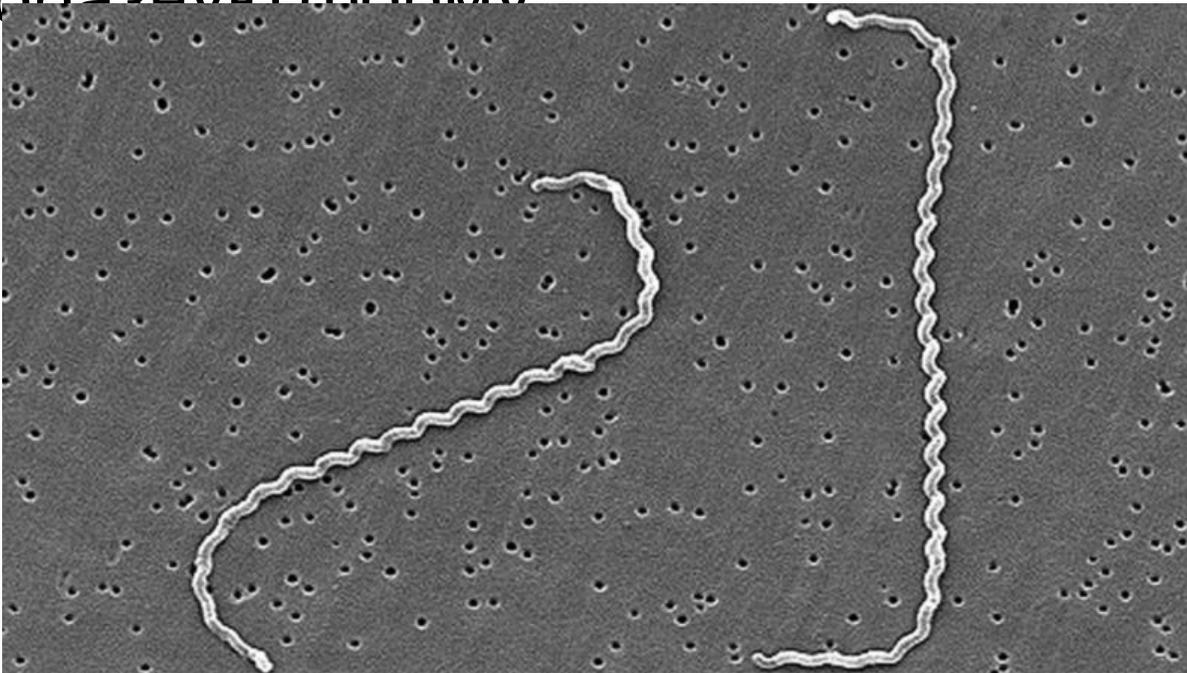
Изогнутые и извитые бактерии (спиралевидные, вибриоидные)

- **Боррелии** (род *Borrelia*) - это длинные извитые бактерии, имеющие 3-8 крупных завитков и 7-20 фибрилл. К боррелиям относятся возбудители болезни Лайма и возвратного тифа.



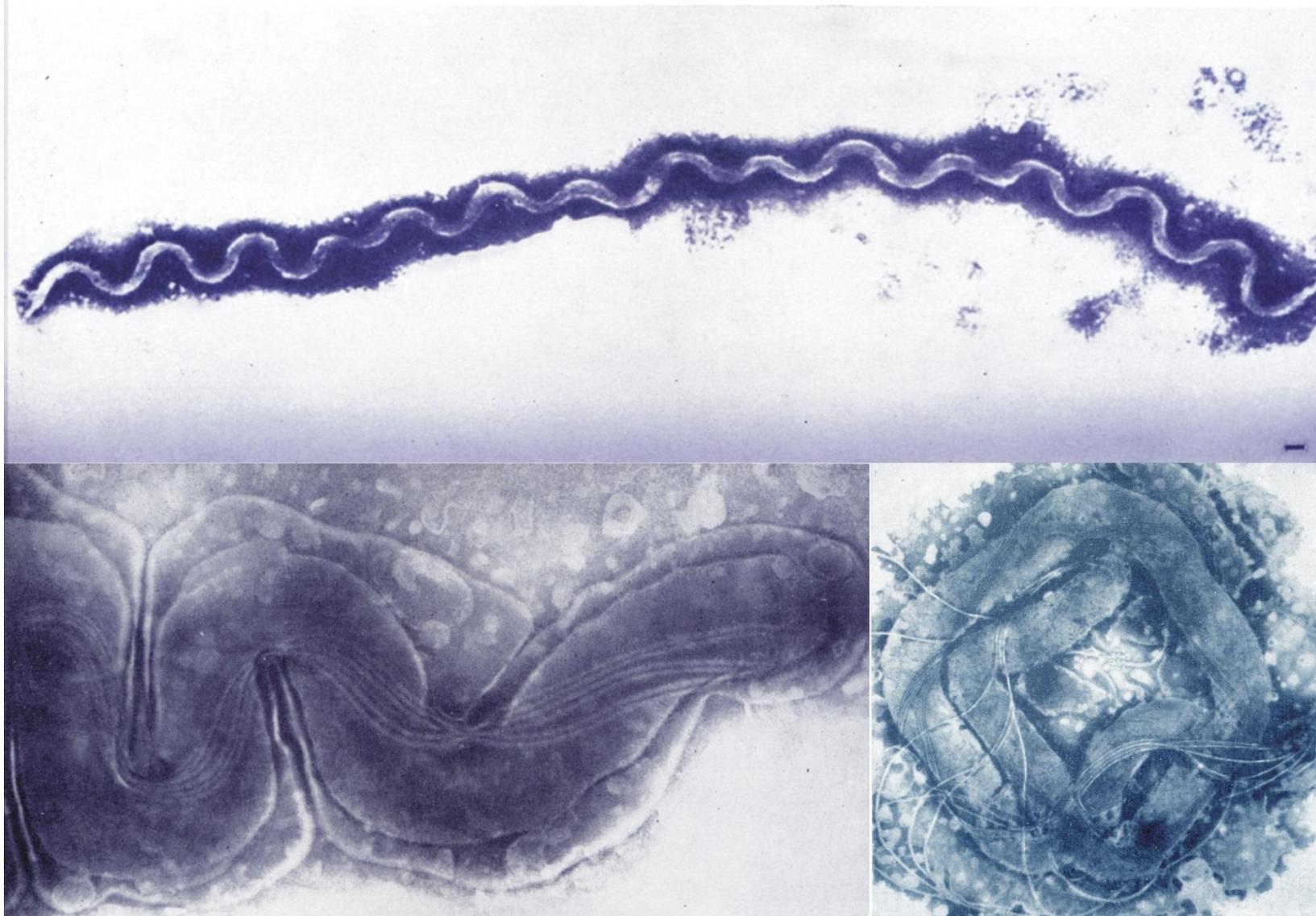
Изогнутые и извитые бактерии (спиралевидные, вибриоидные)

- Лептоспиры (род *Leptospira*) - это извитые бактерии, имеющие мелкие частые завитки. Внешне лептоспиры напоминают закрученную веревку. Они имеют 2 осевые фибриллы. Концы клеток изогнуты крючком и имеют утолщения. Лептоспиры образуют вторичные завитки, в результате чего приобретают S-образную форму.



Патогенным представителем лептоспир является *L. interrogans*. При попадании в организм с водой или пищей этот возбудитель вызывает развитие лептоспироза, который сопровождается кровоизлияниями и желтухой.

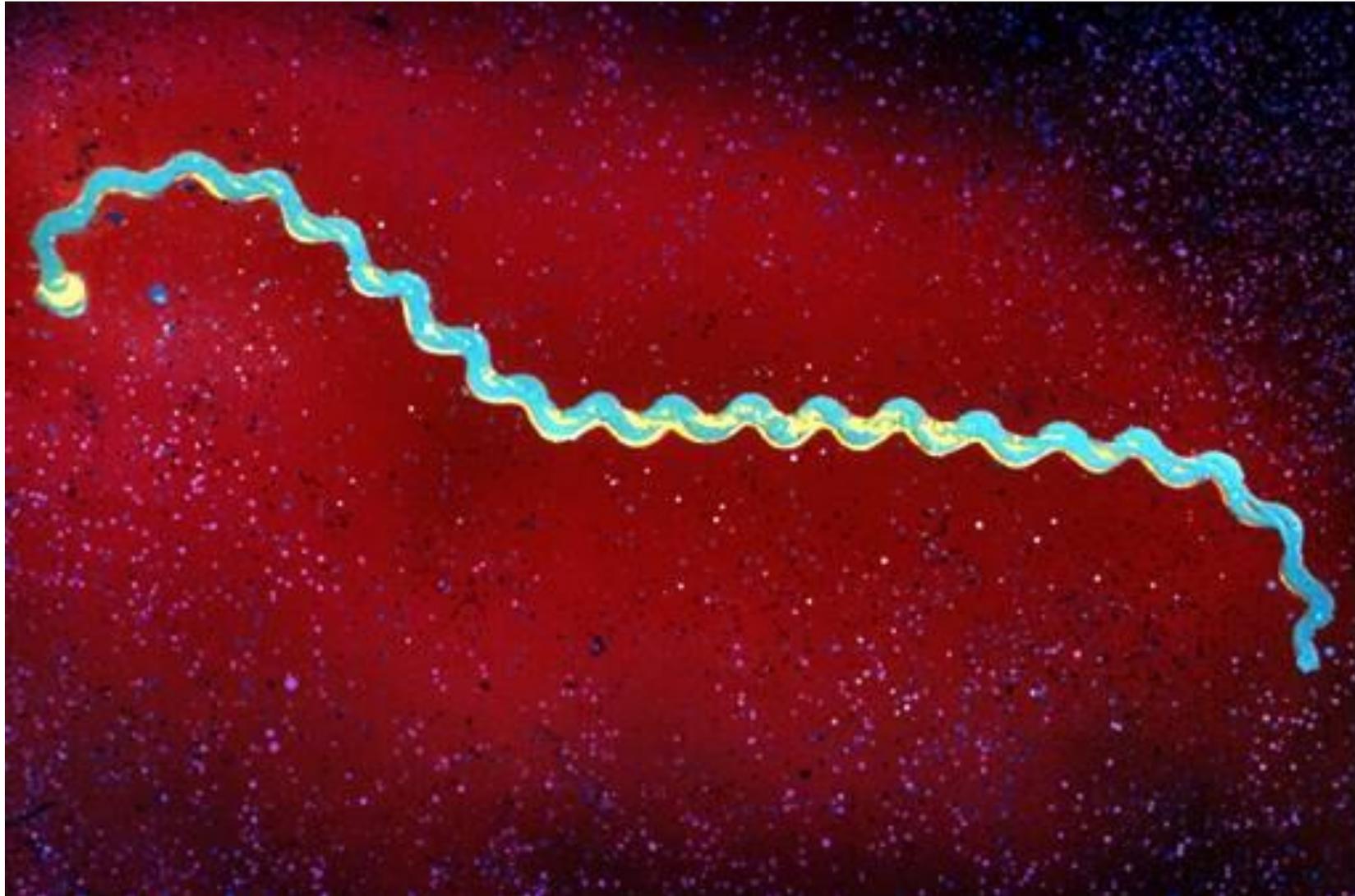
Трепоне́мы



Боррелии



Лептоспиры

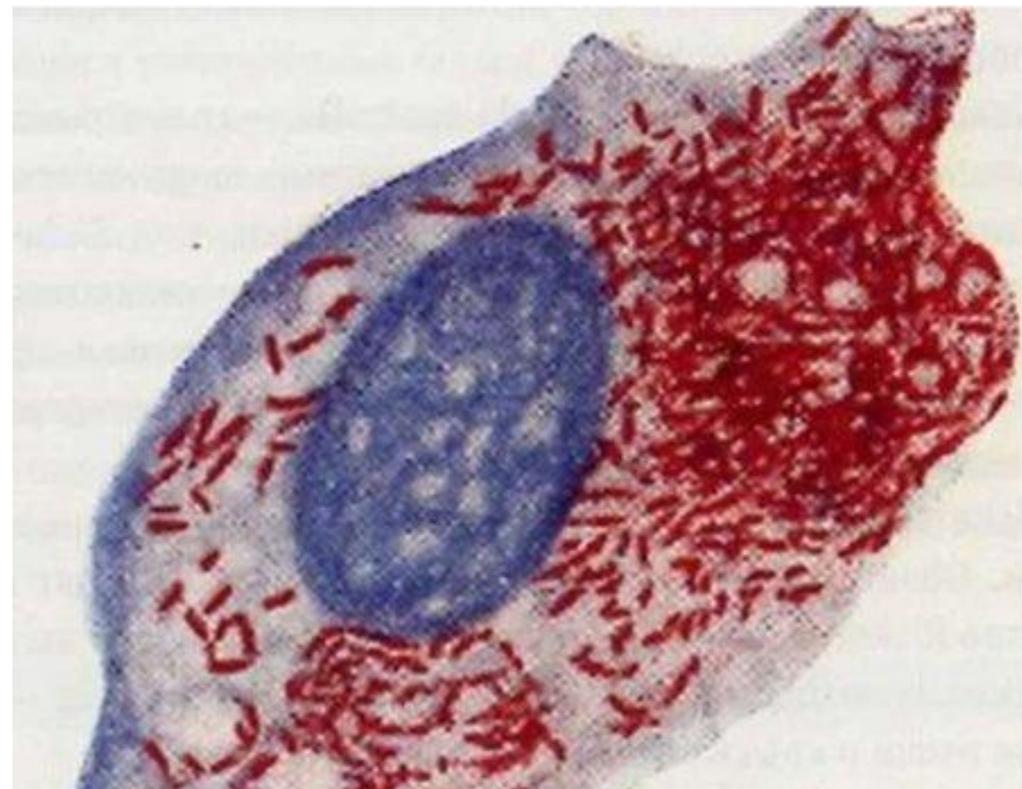


Методы определения вида микроорганизмов

Методы определения вида микроорганизмов

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

- **Риккетсии** - мелкие палочковидные бактерии, которые являются облигатными внутриклеточными паразитами.
- Размножаются бинарным делением внутри инфицированных клеток.
- Обитают в организме членистоногих (вши, блохи, клещи), которые являются для них хозяевами или переносчиками.
- Свое название риккетсии получили по фамилии американского патолога Х. Т. Риккетса, который впервые описал одного из возбудителей риккетсиозов - возбудителя пятнистой лихорадки Скалистых гор.



- В зависимости от условий развития форма и размер риккетсий могут изменяться: клетки могут приобретать кокковидную, нитевидную или неправильную форму.
- Строение риккетсий соответствует структуре грамотрицательных бактерий.
- Они не образуют спор и капсул, неподвижны.
- В мазках-отпечатках тканей риккетсии окрашивают по Романовскому-Гимзе: при этом риккетсии окрашиваются в красный цвет, а инфицированные клетки – в синий цвет.
- У человека риккетсии вызывают эпидемический (вшивый) сыпной тиф (*Rickettsia prowazekii*), клещевой риккетсиоз (*R. sibirica*), пятнистую лихорадку Скалистых гор (*R. rickettsii*) и другие риккетсиозы.

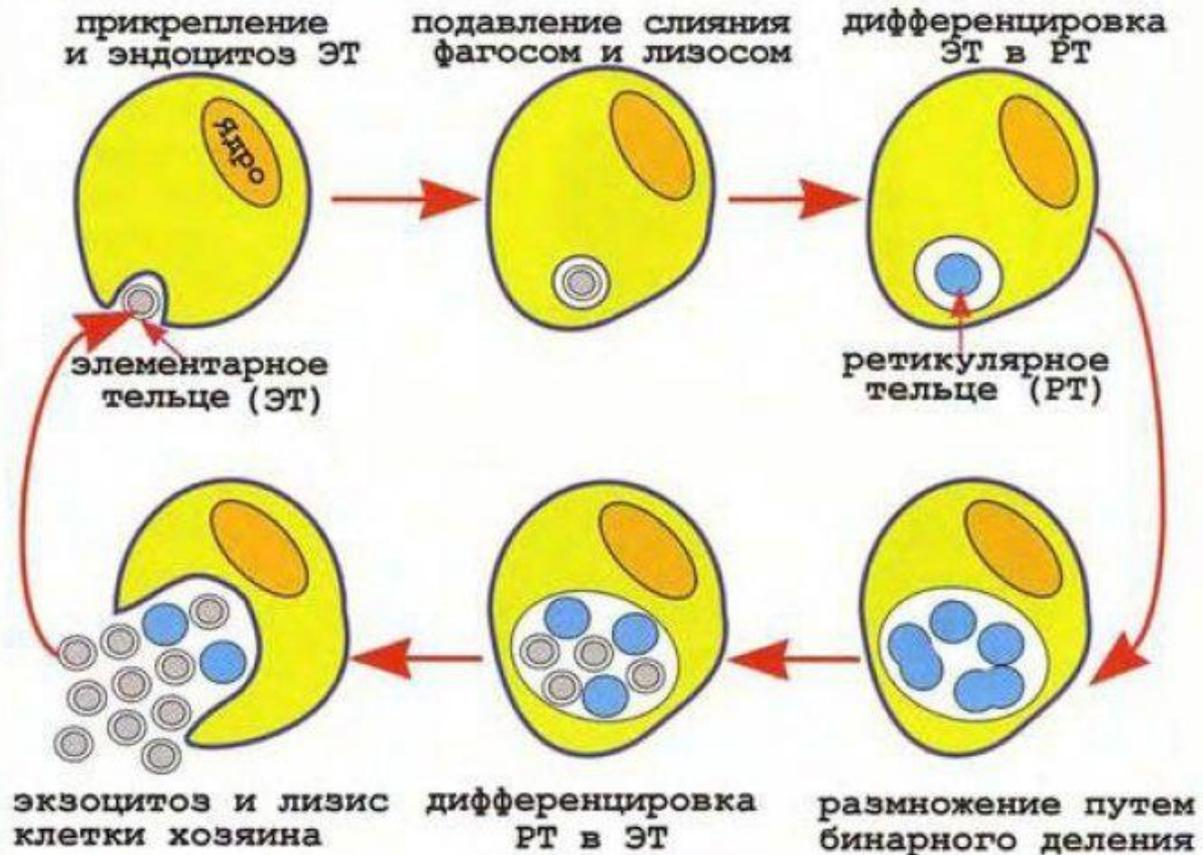
- **Хламидии** представляют собой облигатные внутриклеточные кокковидные грамотрицательные бактерии. Хламидии размножаются только в живых клетках. На питательных средах хламидии не растут.
- Хламидии способны существовать в двух формах:
 - ЭТ - элементарные тельца;
 - РТ - ретикулярные тельца.

Элементарные тельца являются внеклеточной (покоящейся) формой. Они представляют собой мелкие сферические образования с толстой клеточной стенкой, окрашиваются по Романовскому-Гимзе в красный (пурпурный) цвет, метаболически неактивны, неспособны к делению, нечувствительны к антибиотикам. Элементарные тельца попадают в клетку путем эндоцитоза. В клетке формируется вакуоль, внутри которой элементарные тельца увеличиваются в размерах и превращаются в **ретикулярные тельца**, способные к бинарному делению.

Ретикулярные тельца являются внутриклеточной (вегетативной) формой. Они крупнее элементарных телец в несколько раз, имеют тонкую клеточную стенку, окрашиваются по Романовскому-Гимзе в голубой или фиолетовый цвет, метаболически активны, способны к бинарному делению, чувствительны к антибиотикам.

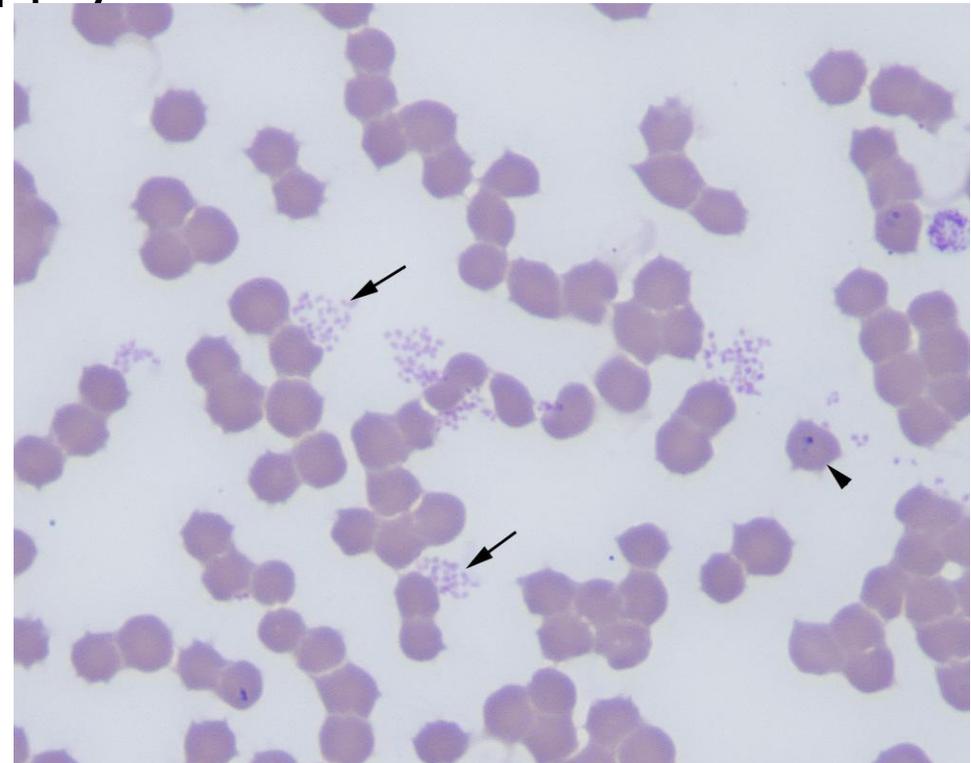
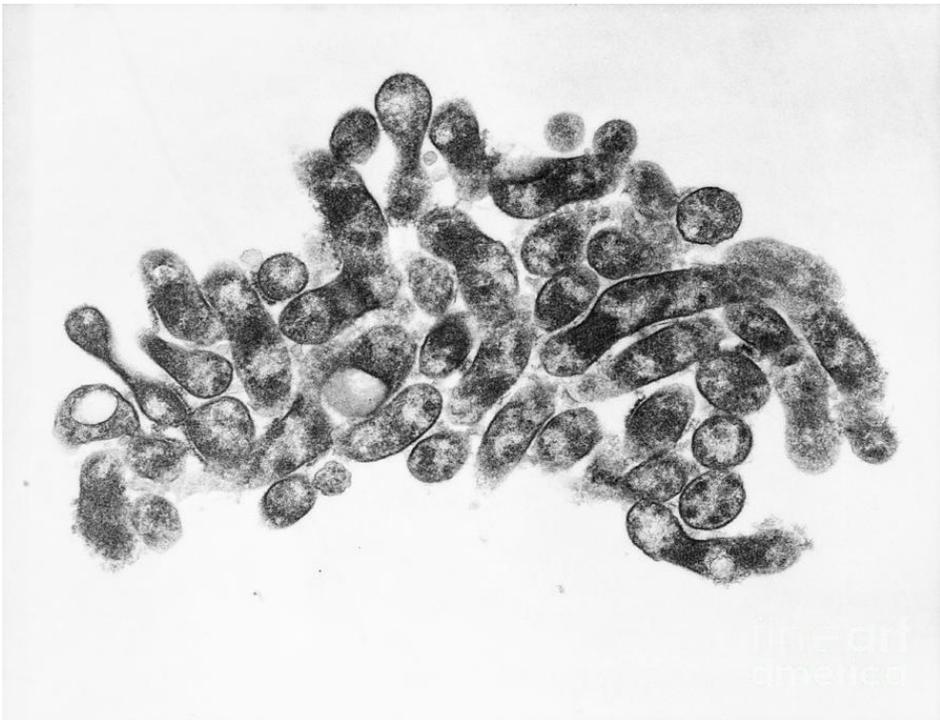
- Внутри клеток **ретикулярные тельца** делятся и затем превращаются в элементарные тельца, которые выходят из клеток путем экзоцитоза или лизиса клетки. Вышедшие из клетки элементарные тельца инфицируют другие клетки, в результате чего цикл развития хламидий повторяется.

Репликативный цикл *Chlamydia trachomatis*



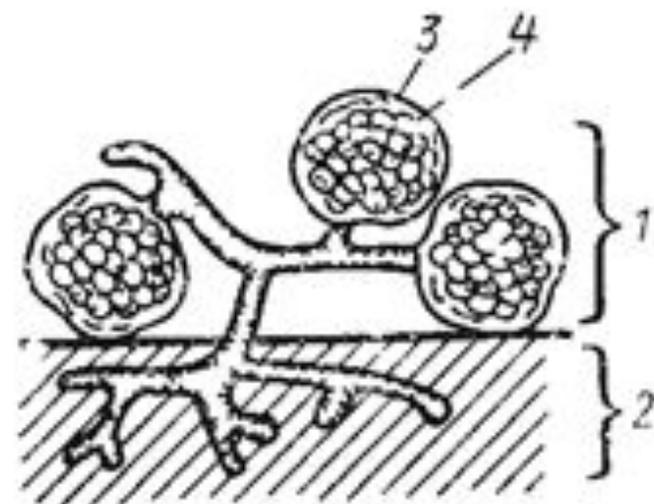
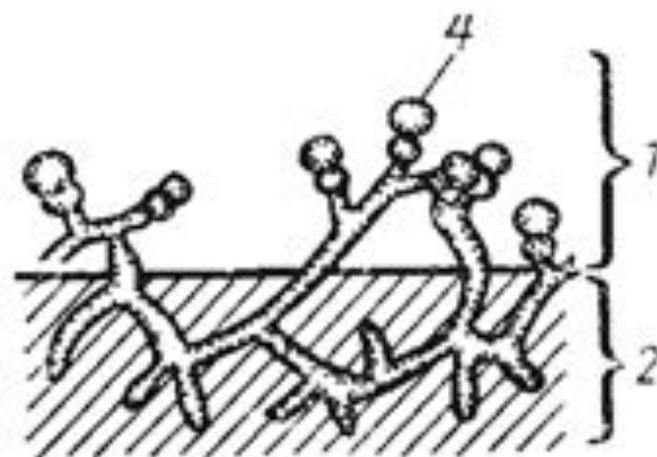
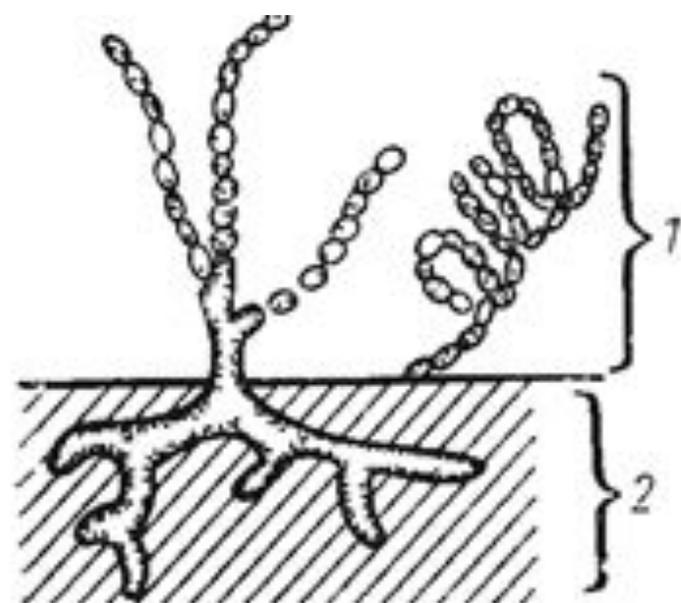
У человека хламидии вызывают поражения глаз (трахома, конъюнктивит), урогенитального тракта, легких и других органов

- **Микоплазмы** представляют собой мелкие бактерии, окруженные только цитоплазматической мембраной и не имеющие клеточной стенки. Они относятся к классу *Mollicutes*, содержат в цитоплазматической мембране стеролы. Из-за отсутствия клеточной стенки микоплазмы осмотически чувствительны. Имеют разнообразную форму: кокковидную, нитевидную, колбовидную.



- Размножение микоплазм может происходить путем деления, фрагментации, почкования. После проникновения в организм микоплазмы прикрепляется к эпителиальным клеткам и паразитируют на их мембране.
- Вне организма микоплазмы растут на специальных питательных средах. У человека они вызывают поражения легких (*Mycoplasma pneumoniae*) и мочеполового тракта (*M. hominis*).

- **Актиномицеты** представляют собой ветвящиеся, нитевидные или палочковидные грамположительные бактерии. Название актиномицетов происходит от греческих слов actis – луч и mykes – гриб. Это название указывает на то, что актиномицеты в пораженных тканях образуют клубок плотно переплетающихся нитей с отходящими от центра лучами (устаревшее название актиномицетов – лучистые грибки).
- Нитевидные переплетающиеся несептированные клетки актиномицетов (гифы) образуют **субстратный** (первичный) и **воздушный** (вторичный) мицелий.
- Субстратный мицелий формируется в результате врастания клеток в питательную среду, а воздушный мицелий образуется на поверхности среды. Актиномицеты размножаются как путем фрагментации мицелия, так и путем образования спор на воздушном мицелии. Споры актиномицетов не обладают термоустойчивостью.



АКТИНОМИЦЕТЫ
1 — воздух, 2 - субстрат