

ЛЕКЦІЯ № 2

Тема: Еволюція поглядів на походження мікроорганізмів. Класифікація й ідентифікація мікроорганізмів

План

1. Еволюція поглядів на походження мікроорганізмів.
2. Класифікація й ідентифікація мікроорганізмів.
3. Принципи систематизації бактерій у визначнику Берджи.

1. Еволюція поглядів на походження мікроорганізмів

У цей час немає єдності в поглядах на загальну систему живого світу. Спроби укласти всю існуючу різноманітність організмів у тверду схему не доцільні, оскільки це не описує, а порушує природні зв'язки між організмами.

Аристотель (384 – 322 рік до н. е.) був першим, хто спробував систематизувати накопичені на той час відомості про живі організми. Біологи з тих пір поділяють живий світ на два царства: Тварини й Рослини.

Після відкриття Левенгука до XIX століття всі мікроорганізми відносили до «маленьких істот тваринної природи».

Є. Геккель (1834 – 1919) вважав, що мікроорганізми настільки відрізняються як від царства тварин, так і від царства рослин, що їх необхідно виділити в окреме царство – **Protista**. У це царство ввійшли бактерії, гриби, водорості, найпростіші – у них відсутня диференціація на органи й тканини. Термін **Protista** застосовується і тепер.

Подальше вивчення «первосуществ» виявило неоднорідність цієї групи. Тоді ж стало зрозуміло, що поняття «мікроорганізми» не має таксономічного змісту. Воно поєднує організми за ознакою їх «малості» і пов'язаних із цим специфічних методів вивчення. Дані про відмінність у будові клітин мікроорганізмів накопичувалися з кінця XIX століття, що спонукало розподілити групи на вищі й нижчі протісти.

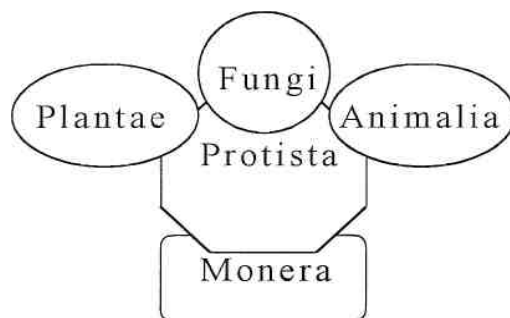
До вищих стали відносити мікроскопічних тварин (найпростіших), мікроводорості (крім синьо-зелених), гриби (цвілі, дріжджі).

До нижчих – усіх бактерії й синьо-зелені водорості (ціанобактерії).

За основними типами клітинної будови всі живі організми поділяються на дві великі групи: – *еукаріоти* і *прокаріоти*. Вищі – еукаріоти, нижчі – прокаріоти.

Меррей (1968) запропонував тільки два царства: *Procaryota* і *Eucaryota*.

Виттекер (1969) запропонував схему, за якою усі живі організми, що мають клітинну будову, представлені розділеними на 5 царств. Така система класифікації живого світу враховує й відбиває 3 рівня організації живих систем.



Monera – включає нижчі протисти – бактерії й синьо-зелені водорості.

Protista – одноклітинні, не диференційовані форми життя, що утворилися в результаті якісного стрибка в процесі еволюції (дріжджі, найпростіші).

Fungi – гриби – спосіб харчування осмотрофний – усмоктування розчинених органічних речовин.

Plantae – рослини – фототрофні.

Animalia – тварини – голозоїдні – захоплення й переварювання.

Зупинимося на деяких загальних структурних ознаках усіх клітинних організмів – **прокаріот** і **еукаріот**.

ЗАГАЛЬНЕ: клітина – це шматочок цитоплазми, обмежений мембраною. Отже, наявність: цитоплазми; мембрани; обов'язковими хімічними компонентами клітини є ДНК і РНК – нуклеїнові кислоти, білки, ліпіди, вуглеводи.

Вивчення тонкої структури клітин дозволило виявити відмінності клітин прокаріот і еукаріот.

Відмінності в будові клітин прокаріот і еукаріот

Ознака	Прокаріотична клітина	Еукаріотична клітина
Організація генетичного матеріалу	Нуклеоїд, що містить найчастіше з однієї замкненої в кільце або лінійної хромосоми. Гени не несуть інтронів (за винятком архебактерій). Гени організовані в оперони	Ядро, що містить звичайно більше однієї хромосоми. Є білки гістони. Гени мають екзонно-інтронну організацію. Оперон відсутній.
Локалізація ДНК	У нуклеоїді й плазмідах	У ядрі й деяких органелах
Наявність вторинної порожнини	Одна внутрішня порожнина, утворена ЦПМ	Наявність вторинної порожнини
Цитоплазматичні органели	Відсутні (крім рибосом)	Є
Рибосоми в цитоплазмі	70 S-Типу	80S- типу
Рух цитоплазми	Відсутній	Є
Джгутики	Складаються з однієї фібрили, побудованої із субодиниць білка флагеліна	Складаються з 20 фібрил (мікротрубочок), зібраних у групи
Компартменталізація	Слабко виражена	Клітина розділена мембранами на окремі відсіки ЦПС
Клітинна стінка (там, де вона є)	Містить пептидоглікан муреїн (за винятком архебактерій)	Пептидоглікани відсутні

Прокаріоти відрізняються від еукаріот рядом основних ознак.

1. Відсутність дійсного диференційованого ядра (ядерної мембрани).
2. Відсутність розвиненої ендоплазматичної сітки, апарата Гольджі.
3. Відсутність мітохондрій, хлоропластів, лізосом.
4. Нездатність до ендоситозу (захоплення часток їжі).
5. Клітинний поділ не пов'язаний із циклічними змінами будови клітини.
6. Значно менші розміри (як правило). Більша частина бактерій має розміри 0,5-0,8 мікрометрів (мкм) x 2-3 мкм.

Крім будови клітини, прокаріоти й еукаріоти відрізняються за іншими ознаками:

1. У мікроорганізмів, у зв'язку з малими розмірами, дуже велике співвідношення поверхні тіла до об'єму тіла (у порівнянні з макроорганізмами). За правилом Рубнера (1893) інтенсивність обміну речовин у організмів пропорційна поверхні тіла. Для мікроорганізмів характерна висока інтенсивність обміну речовин.

2. Мікроорганізмам властива висока метаболічна активність і мінливість ферментативного апарата (*пластичність метаболізму*). Здійснюється принцип: потрібний фермент – у потрібний час. Ферменти утворюють мультиферментні комплекси.

3. Властива екологічна «всюдність» (за визначенням В.І. Вернадського), тобто поширення в різних середовищах.

4. Характерна слабка морфологічна диференціація.

5. Багато груп прокаріот здатні існувати тільки в анаеробних умовах (без доступу молекулярного кисню), одержуючи необхідну для зростання енергію в результаті *бродиння* або *анаеробного дихання*.

6. Значна частина мікроорганізмів можуть одержувати енергію шляхом *окиснення неорганічних речовин*.

7. Серед бактерій різних таксономічних груп широко поширена здатність до фіксації молекулярного азоту.

8. Розмноження здійснюється шляхом бінарного поперечного поділу або брунькування.

9. Висока швидкість розмноження забезпечує поширення й виживаність.

2. Класифікація й ідентифікація мікроорганізмів

Систематика (таксономія) бактерій є не тільки одним і найбільш важливих і складних, але й менш розроблених розділів мікробіології. Якщо класифікація вищих організмів відбиває їхні еволюційні зв'язки, то створення на цій же основі класифікації усередині царства прокаріот значно складніше. Завданнями систематики є: класифікація, номенклатура й ідентифікація мікроорганізмів.

Класифікація – розподіл різноманіття організмів по групах (таксонам).

Номенклатура – присвоєння назви окремим групам і мікроорганізмам.

Таксон – група організмів, що мають заданий ступінь однорідності.

Назви бактеріям привласнюють відповідно до правил *Міжнародного кодексу номенклатури бактерій*.

Основною таксономічною категорією є *вид*.

Вид – це група близьких між собою організмів, що мають загальний корінь походження й на даному етапі еволюції, що характеризуються певними морфологічними, біохімічними й фізіологічними ознаками, відособлених доборою і пристосованих до певного середовища мешкання.

Вид є еволюційно складеною сукупністю особин, що мають єдиний генотип, який у стандартних умовах проявляється подібними морфологічними, фізіологічними, біохімічними ознаками. Для патогенних бактерій визначення «вид» доповнюється здатністю викликати певні нозологічні форми захворювань.

Види об'єднуються в роди, роди в родини, родини в порядки, порядки в класи, класи у відділи, відділи в царства. В мікробіології існують також більш дрібні таксономічні одиниці, ніж вид: підвид (*subspeciens*), різновид. Підвиди можуть різнитися за фізіологічними (*biovar*), морфологічними (*morphovar*), або по антигенними властивостями (*serovar*), чутливості до бактеріофагів (*фаговари* або *фаготипи*), стійкістю до антибіотиків (*резистентовари*).

Велике значення в мікробіології мають такі поняття, як **клон** – чиста культура, що є потомством однієї клітини, і **штам** – культура бактерій одного виду, виділена з різних джерел або з одного джерела, але в різний час.

Культура – це видима оком сукупність бактерій на живильних середовищах.

Культури можуть бути **чистими** (сукупність бактерій одного виду) і **змішаними** (сукупність бактерій 2-х або більше видів).

Основні таксономічні критерії, що дозволяють віднести штами бактерій до тієї або іншої групи:

- морфологія мікробних клітин (коки, палички, звивисті);
- відношення до фарбування по Граму – тинкторіальні властивості (грампозитивні й грамнегативні бактерії);
- тип біологічного окиснення – аероби, факультативні анаероби, облигатні анаероби;
- здатність до спороутворення.

При описі морфології бактерій певного **таксона** характеризують наступні властиві йому ознаки:

- фарбування по Граму,
- форма бактеріальної клітини,
- розмір бактеріальної клітини,
- наявність захисних пристосувань (капсули, ендоспори),
- рухливість (наявність джгутиків, їхнє число й розташування),
- розташування бактерій у мазку.

Подальша диференціація груп на родини, роди й види, які є основною таксономічною категорією, проводиться на підставі вивчення біохімічних властивостей. Цей принцип покладений в основу класифікації бактерій, наведеної в спеціальних визначниках бактерій.

Ідентифікація встановлює належність мікроорганізмів до певного таксона на підставі наявності певних ознак. У більшості випадків ідентифікація полягає у визначенні родової й видової належності мікроорганізмів.

Слід розрізняти дві системи класифікацій:

- філогенетична (природна) – в основу якої покладена ідея створення системи прокариот, що об'єктивно відбиває родинні відносини між різними групами бактерій і історію їх еволюційного розвитку (створення філогенетичного дерева бактерій);
- фенотипічна (штучна) – ставить більш скромні практичні цілі – об'єднує мікроорганізми на основі їх подібності й використовується для ідентифікації, тобто для швидкого визначення виду в приналежності до певного таксона.

Головна мета штучної класифікації – легкість визначення – **ідентифікації**.

Загальновизнаною міжнародною є класифікація бактерій **Д.Х. Берджи** (1860-1937) – «Посібник з визначення бактерій Берджи», що періодично видається Спілкою американських бактеріологів із залученням визнаних фахівців з інших країн, що вивчають ті або інші групи бактерій. Перше видання визначника було випущено в 1923 році групою американських учених під керівництвом **Д.Х. Берджи**. Останнє 9-е видання вийшло в 1993 році, а в російському перекладі в 1997 р.

Визначник поєднує тільки невелику частину бактерій, що існують у природі. Він побудований на основі фенотипічних ознак: морфологічних, тинкторіальних, фізіологічних, молекулярно-генетичних. Такий розподіл найбільше підходить для ідентифікації (визначення виду) бактерій з метою діагностики інфекційних захворювань.

Властивості й ознаки, характерні для бактерій даної групи й не характерні для мікроорганізмів інших груп, називають **критеріями систематики**. Чим більше загальних ознак мають порівнювані організми, тим більше й підстав для включення їх до однієї таксономічної групи.

Для ідентифікації бактерій використовують сукупність ознак (критеріїв).

1. Фенотипічні критерії (морфологічні, культуральні, фізіологічні, біохімічні):

– морфологічні ознаки (форма, розміри клітин, наявність або відсутність джгутиків, капсули, здатність до спороутворення, особливості внутрішньоклітинної будови);

– тинкторіальні – (відношення до барвників, обумовлене спорідненістю структур клітини до барвників, внаслідок чого вони набувають певного забарвлення, наприклад, фарбування по Граму);

– культуральні ознаки – це ознаки, що виявляються при культивуванні чистої культури в лабораторних умовах, особливості росту на *цільних* (розмір, забарвлення, форма, характер колоній) і *рідких* живильних середовищах (утворення осаду, плівки, помутніння);

– фізіологічні ознаки – використання тих або інших джерел вуглецю й азоту, потреба у факторах росту, тип енергетичного обміну (аеробне дихання, анаеробне дихання, бродіння), відношення до температури, вологості, кислотності;

– біохімічні ознаки – наявність різних ферментів, утворення продуктів метаболізму (кислоти, спирти, гази, біологічно-активні речовини), хімічний склад клітини.

2. Серологічні критерії систематики: засновані на специфічних реакціях антигенів (компоненти клітинних стінок, джгутиків, капсул, ДНК, токсинів) мікроорганізмів з антитілами, що містяться в сироватках.

Серологічні реакції (аглютинація, преципітація, зв'язування комплексу, імунофлуоресценція, імуноферментний аналіз) дозволяють швидко проводити попередню ідентифікацію мікроорганізмів.

3 Генетичні критерії систематики (молекулярно-генетичні) – найбільш об'єктивні. До них належать: визначення відносного змісту ГЦ-пар в ДНК, гібридизація нуклеїнових кислот; визначення нуклеотидних послідовностей у молекулах ДНК і РНК, застосування генетичних зондів (ДНК-зондів), рестрикційний аналіз, методи генетичного аналізу (вивчення переносу генів, генетичних схрещувань, картування хромосом бактерій тощо).

3. Принципи систематизації бактерій у визначнику Берджи

Визначник Берджи систематизує всі відомі бактерії за принципами ідентифікації бактерій, що знайшли найбільше поширення у практичній бактеріології, які засновані на відмінностях у будові клітинної стінки по відношенню до забарвлення за методом Грама.

Визначник виділяє чотири основні категорії бактерій:

Gracilicutes [від лат. *gracilis*, витончений, тонкий, + *cutis*, шкіра] – види з тонкою клітинною стінкою, що забарвлюються грамнегативно;

Firmicutes [від лат. *firmus*, міцний, + *cutis*, шкіра] – бактерії з товстою клітинною стінкою, що забарвлюються грампозитивно;

Tenericutes [від лат. *tener*, ніжний, + *cutis*, шкіра] – бактерії, позбавлені клітинної стінки (мікоплазми та інші представники класу *Mollicutes*);

Mendosicutes [від лат. *mendosus*, неправильний, + *cutis*, шкіра] – архебактерії (метан- і сульфатредуючі, галофільні, термофільні й архебактерії, позбавлені клітинної стінки).

Відділ *Gracilicutes* .

Група 1. Спірохети. Включає вільноживучі й паразитичні види; для людини патогенні представники родів *Treponema*, *Borrelia* і *Leptospira*.

Група 2. Аеробні й мікроаерофільні рухливі звиті й вигнуті грамнегативні бактерії. Патогенні для людини види входять до родів *Campylobacter*, *Helicobacter* і *Spirillum*.

Група 3. Нерухливі (рідко рухливі) грамнегативні бактерії. Не містять патогенні види.

Група 4. Грамнегативні аеробні й мікроаерофільні палички й коки. Патогенні для людини види включені до складу родин *Legionellaceae*, *Neisseriaceae* і *Pseudomonadaceae*; у групу входять також патогенні й умовно-патогенні бактерії родів *Acinetobacter*, *Afipia*, *Alcaligenes*, *Bordetella*, *Brucella*, *Flavobacterium*, *Francisella*, *Kingella*, і *Moraxella*.

Група 5. Факультативно анаеробні грамнегативні палички. Група утворена трьома родинками – *Enterobacteriaceae*, *Vibrionaceae* і *Pasteurellaceae*, кожна з яких включає патогенні види, а також патогенні й умовно-патогенні бактерії родів *Calymmobacterium*, *Cardiobacterium*, *Eikenella*, *Gardnerella* і *Streptobacillus*.

Група 6. Грамнегативні анаеробні прямі, вигнуті й спіральні бактерії. Патогенні й умовно-патогенні види входять до складу родів *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Porphyromonas* і *Prevotella*.

Група 7. Бактерії, що здійснюють дисиміліційне відновлення сульфату або сірки. Не включає патогенні види.

Група 8. Анаеробні грам негативні коки. Включає умовно-патогенні бактерії роду *Veillonella*.

Група 9. Рікетсії й хламідії. Три родини *Rickettsiaceae*, *Bartonellaceae* і *Chlamydiaceae*, кожне з яких містить патогенні для людини види.

Групи 10 і 11 включають анокси- і оксигенні фототрофні бактерії, не патогенні для людини.

Група 12. Аеробні хемолітотрофні бактерії. Поєднує сірко-, залізо- і марганець окиснювальні бактерії, нітрифікуючі, що не викликають захворювань у людини.

Групи 13 і 14 включають бактерії, що брунькуються й/або, що мають вирости, й бактерії, що утворюють чохли. Представлені вільноживучими видами, не патогенними для людини.

Групи 15 і 16 об'єднують ковзаючі бактерії, що не утворюють плодові тіла й ті, що їх утворюють. Групи не включають види патогенні для людини.

Відділ *Firmicutes*

Група 17. Грампозитивні коки. Включає умовно-патогенні види родів *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Sarcina*, *Staphylococcus*, *Stomatococcus* і *Streptococcus*.

Група 18. Спороутворювальні грамполітивні палички й коки. Включає патогенні й умовно-патогенні палички родів *Clostridium* і *Bacillus*.

Група 19. Аспорогенні грам позитивні палички правильної форми. Включає умовно-патогенні види родів *Erysipelothrix* і *Listeria*.

Група 20. Аспорогенні грамполітивні палички неправильної форми. До складу групи входять патогенні й умовно-патогенні види родів *Actinomyces*, *Corynebacterium*, *Gardnerella*, *Mobiluncus* і ін.

Група 21. Мікобактерії. Включає єдиний рід *Mycobacterium*, що об'єднує патогенні й умовно-патогенні види.

Групи 22-29. Актиноміцети. Серед численних видів лише нокардіоформні актиноміцети (**група 22**) родів *Gordona*, *Nocardia*, *Rhodococcus*, *Tsukamurella*, *Jonesia*, *Oerskovia* і *Terrabacter* здатні викликати ураження в людини.

Відділ *Tenericutes*

Група 30. Мікоплазми. Патогенні для людини види, включені до складу родів *Acholeplasma*, *Mycoplasma* і *Ureaplasma*.

Відділ *Mendosicutes*

Інші групи – метаногенні бактерії (**31**), сульфатредуючі бактерії (**32**), екстремально галофільні аеробні архебактерії (**33**), архебактерії, позбавлені клітинної стінки (**34**), екстремальні термофіли й гіпертермофіли, що метаболізують сірку (**35**) – не містять патогенні для людини види.