



II-Bakterilerin Sınıflandırılması

Doç. Dr. Özlem BÜYÜKTANIR YAŞ

Öğrenim Hedefleri

- Canlıların sınıflandırılma prensiplerini açıklayabilmeli
- Bakterileri sınıflandırma yöntemlerini tanımlayabilmeli

Sınıflandırma (Klasifikasyon), İsimlendirme (Nomenklatür) ve Tanımlama (İdentifikasyon)

- **Taksonomi**, ortak özellikler temelinde organizma gruplarının tanımlanması ve isimlendirilmesi bilimi
- **Takson**, taksonomistlerin bir birim oluşturmak için değerlendirdiği organizma popülasyonundan oluşan bir grup

Sınıflandırma

- Organizmaların taksonomik gruplara sınıflandırılması
- Organizmaları en küçük birimi “tür” olan gruplara sistematik olarak ayırma işlemi
- Bakterilerin sınıflandırılması, deneysel ve gözlemsel teknikler gerektirir
- Bunun nedeni, bir taksonun yeterli bir tarifi için biyokimyasal, fizyolojik, genetik ve morfolojik özelliklerin sıklıkla gerekli olması

Sınıflandırmanın Amacı

- Doğayı daha kolay anlaşılabilir hale getirmektir.
- Canlılar ortak özellikleri ve akrabalık derecelerine göre sınıflandırılırlar.
- Yapılan ilk sınıflandırmalar sadece canlıların dış görünüşüne göre yapılmıştır.
- İlk sınıflandırma Aristo tarafından bitkiler ve hayvanlar olarak yapılmıştır.

- **İsimlendirme (Nomenklatür) ,**

-
- Bir organizmanın sahip olduğu özelliklere dayalı olarak uluslararası kurallara göre isimlendirilmesi

- **İdentifikasyon (Tanımlama),**

- Bir sınıflandırma şemasının aşağıdaki maddeleri hedefleyen pratik kullanımı
- 1) arzu edilen organizmaları istenmeyenlerden ayırt etmek,
- 2) klinik ortamda kültüre özgü özellikleri doğrulamak
- 3) bir hastalığın etkenini izole etmek ve tanımlamak (identifiye etme).

Taksonomik sıralar, organizmaların organizasyonu için temel oluşturur

- **Binomiyal Klasifikasyon Sistemi**

- **Genus (Cins) ve Species (Tür);**

- Ör: *Escherichia coli*

- Ör: *Mycobacterium tuberculosis*

- Taksonomide Organizmaların Sınıflandırması; kapsamı genişten daraya doğru

- **Alem, Şube, Sınıf, Takım, Familya, Cins ve Tür.**

- **Familya, Cins ve Tür en fazla kullanılanlardır.**

- Cins ismi, bazen, o mikroorganizmayı bulan kişinin adını taşıyabilir.

Örneğin *Escherichia*, *Salmonella*, *Brucella*, *Pasteurella*, vs.

- Tür ismi, orijinini, genellikle, mikroorganizmanın çeşitli özelliklerinden alır.

Örneğin, coli, colon (barsak),

- aureus, altın sarısı,
- aerogenes, gaz oluşturan,
- albus beyaz,
- pyogenes irin oluşturan,
- abortus yavru atan gibi

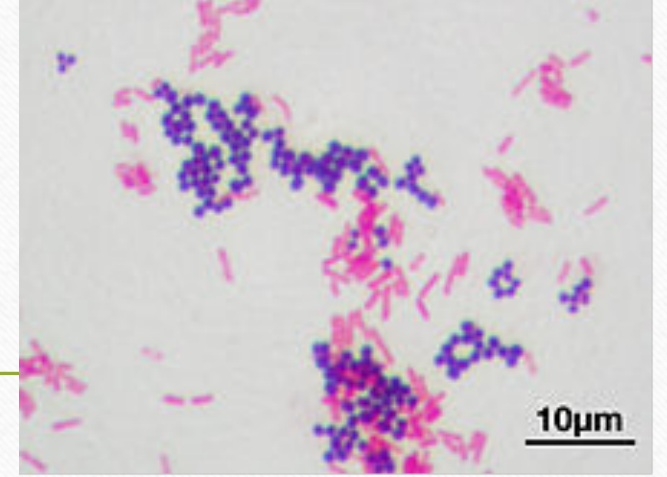
- **Alem** Prokaryotae
 - **Şube** Gracilicutes
 - **Sınıf** Scotobacteria
 - **Takım** Eubacteriales
 - **Familya** Enterobacteriaceae
 - **Cins** Escherichia
 - **Tür** Escherichia coli
 - **Alttür** Escherichia coli O157: H7
-

Bakteri Klasifikasyonu Kriterleri

- Bakteriyolojik Besiyerinde Üretme

- Bakteriyoskopi

- Gram boyama, ışık mikroskobu ile görüntüleme ile birlikte,
- Bakterilerin sınıflandırılması için en bilgilendirici yöntemler.
- Bu boyama tekniği, hücre duvarlarının yapısındaki temel farklılıklar temelinde bakterileri geniş anlamda ayırır.



- **Biyokimyasal Testler**



-
- Karakteristik metabolik fonksiyonların varlığını tespit edebilen ve bakterileri spesifik bir takson içine gruplandırmak için kullanılabilecek birçok biyokimyasal testler vardır.
 - Örneğin,
 - Oksidaz testi
 - Katalaz testi
 - Koagulaz testi

İmmunolojik Testler-Serotipler, Serogruplar ve Serovarlar

- "Sero" ifadesi, lipopolisakkarit (LPS), flagella veya kapsüler antijenler gibi spesifik bakteriyel hücre yüzey yapıları ile reaksiyona giren antikorların (poliklonal veya monoklonal) kullanımını gösterir.
- "Serotip", "serogruplar" ve "serovarlar" terimleri, belirli bir bakteri türünün suşlarını alt gruplara ayırmak için kullanılır.
- *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium
- **Tip:** Bir türün içindeki belirli özellikleri aynı olan suş setleri

SINIFLANDIRMA YÖNTEMLERİ

- I- **Doğal (filojenik) klasifikasyon:**
- Bu sistematikğin esası, mikroorganizmalardan birbirlerine çok benzeyenleri, muhtemelen aynı orijinden gelenleri, bir araya toplamak ayrı karakter taşıyanları çıkarmak
- Burada benzerlik kavramı içinde, morfolojik, kültürel, fizyolojik, biyokimyasal, kimyasal, serolojik, patolojik, vs. özellikler bulunmaktadır.

DOĞAL SINIFLANDIRMA

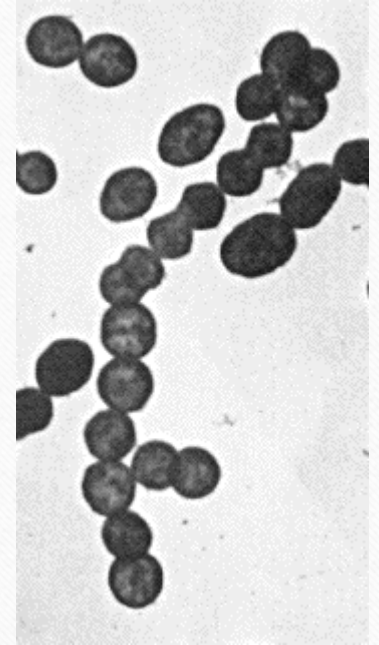
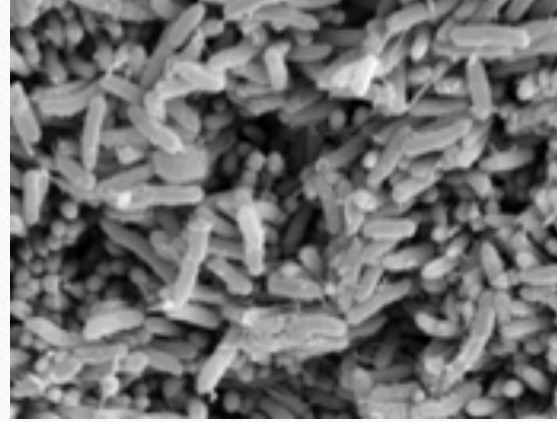
1-Morfolojik Özellikler

Hücrenin şekli

Hücre boyutu

Koloni görünümü

Flagella düzeni



Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

(a) Coccus



(b) Rod/Bacillus



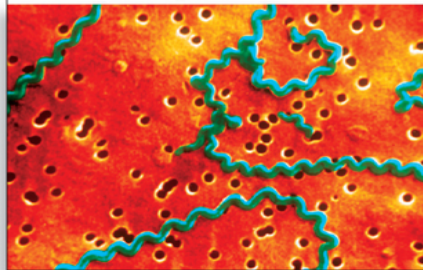
(c) Vibrio



(d) Spirillum



(e) Spirochete



(f) Branching filaments



Key to Micrographs

(a) *Deinococcus* (2,000×) (b) *Lactobacillus bulgaricus* (5,000×) (c) *Vibrio cholerae* (13,000×) (d) *Aquaspirillum* (7,500×)
(e) Spirochetes on a filter (14,000×) (f) *Streptomyces* (1,500×)

© Photo by De Wood. Digital colorization by Chris Pooley, VEM/Photo Researchers

2- Boyanma Özellikleri

Gram boyama

Acid-fast boyama

Yapısal boyama: endospor, flagella, kapsül

3- Fizyolojik Özellikler

C ve N kaynakları

Enerji kaynakları

Hücre duvarı yapıları

pigmentler

yağ asidi kompozisyonu

4- Biyokimyasal Özellikler

Katalaz--- *Staph*+, *Strep*-.

Koagülaz--- *S. aureus*+, *S. epidermidis*-

Oksidaz--- *Neisseria gonorrhoea*+

Üreaz--- *Proteus*+, *Helicobacter*+

- **5- Ekolojik Özellikler**

- **Simbiyotik İlişkiler**
Patojenite (Hastalık oluşturma yetenekleri)

Isı
pH

Oksijen ihtiyaçları

- **6- Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology

Filogenetik Klasifikasyon

Bakteriler Arasındaki Evrimsel İlişkilere Dayalı

- Filogenetik sınıflamalar iki organizma arasındaki ölçülerdir ve ortak ataları paylaştıklarını gösterir.
- Köken benzerliklerine, akrabalık derecelerine ve sahip oldukları homolog yapılara bakılarak canlıların sınıflandırılmasına **filogenetik sınıflandırma** denir.
- Bakterileri sınıflandırmak amacıyla
- Bir **tür**, oldukça standartlaşmış koşullar altında karşılaştırılabilir bir şekilde test edildiğinde, birçok bağımsız özellikte yüksek derecede benzerliği paylaşan tek tek izolat veya suşların genomik olarak uyumlu bir grubudur.

II- NÜMERİKAL TAKSONOMİ (Fenetik Sistem)

- Nümerikal sınıflandırma şemaları benzerlik indeksine dayalıdır
- Mikroorganizmaların benzeyen ve benzemeyen yönleri değerlendirmeye tabi tutulur.
- Taksonomik uzaklık, ortak olan karakterlerin toplam karakterlere oranından hesaplanır.
- Bu yöntem için bir çok fenotipik özelliklere (görülebilene veya saptanabilene) gereksinim vardır. Benzer karakterlere (+) ve benzemeyenlere de (-) puan verilir.

III- GENETİK KLASİFİKASYON

- Mikroorganizmalar arasında benzerlik veya ayrılıkları saptamada, genetik materyalleri, özellikle DNA'ları arasındaki homojenlik durumlarına dayanan klasifikasyon.
-
- Bu tarz klasifikasyonda bakterilerin nükleik asit analizleri yapılır. Bu işlem için de genel olarak şu yöntemler kullanılmaktadır.
 - 1. DNA'lardaki baz sıralarının yüzde olarak kompozisyonu belirlenir.
 - 2. Mikroorganizmalar arasında DNA x DNA veya DNA x RNA hibridizasyon oranları belirlenebilir.
 - 3. Nükleik asitlerin dizi analizi karşılaştırması ile bakteriler arasındaki genetik ilişki (yakınlık veya uzaklık) saptanabilir.

Nükleik asit hibridizasyonu

- Bir bakterinin DNA süspansiyonu yavaş yavaş ısıtılırsa, bazlar arasındaki hidrojen bağları çözülür ve iki polinükleotid iplikçigi birbirlerinden ayrılır (DNA denatürasyonu).
- Eğer solusyon yavaş yavaş soğutulursa bağlar karşılıklı olarak tekrar kurulur ve DNA orijinal çift iplikçikli formuna kavuşur (renaturasyon).
- Bu durumdan yararlanılarak, DNA hibridizasyon testi yapılmaktadır. Bir birlerine baz sıraları ne kadar çok yakın ise, DNA+DNA hibridizasyon oranı da o derecede yüksektir.

FİLOGENETİK sistem

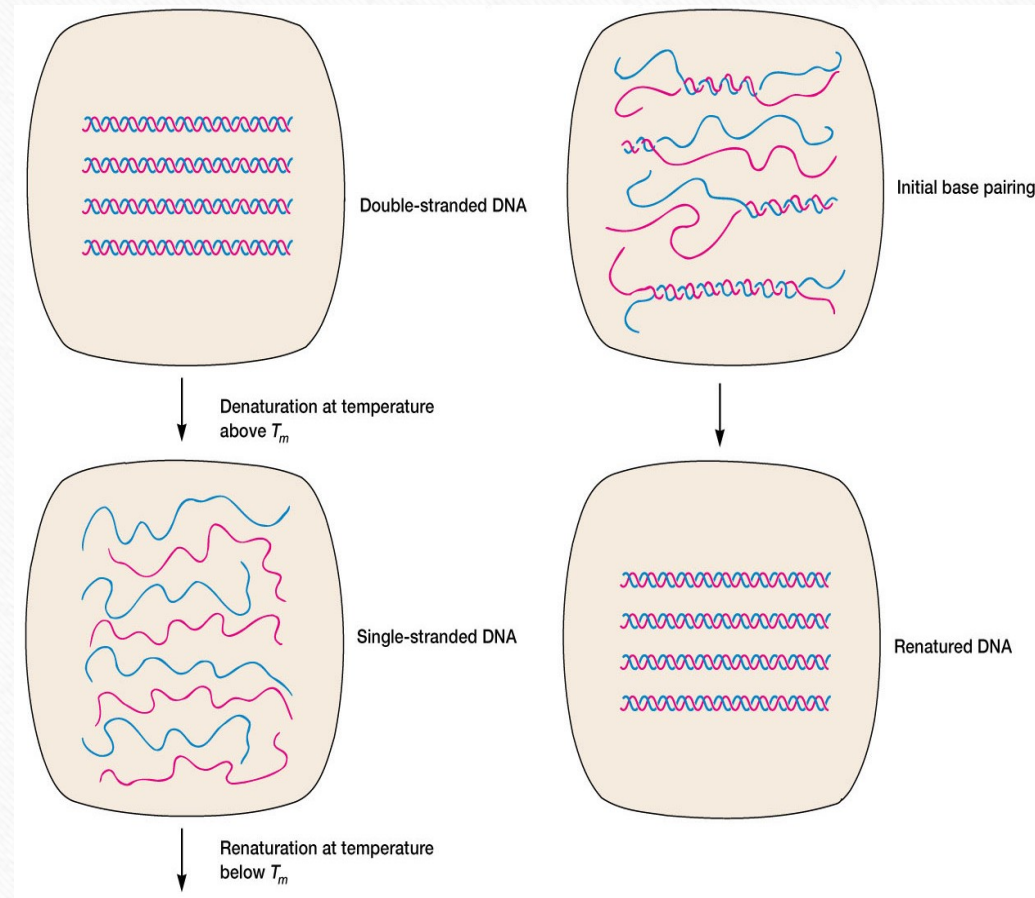
G+C molar oranları

$$\%G+C = \frac{G+C}{A+T+C+G} \times 100$$

A+T+C+G

16S rRNA sekansı

Hibridizasyon oranları



ribosomal RNA (rRNA)

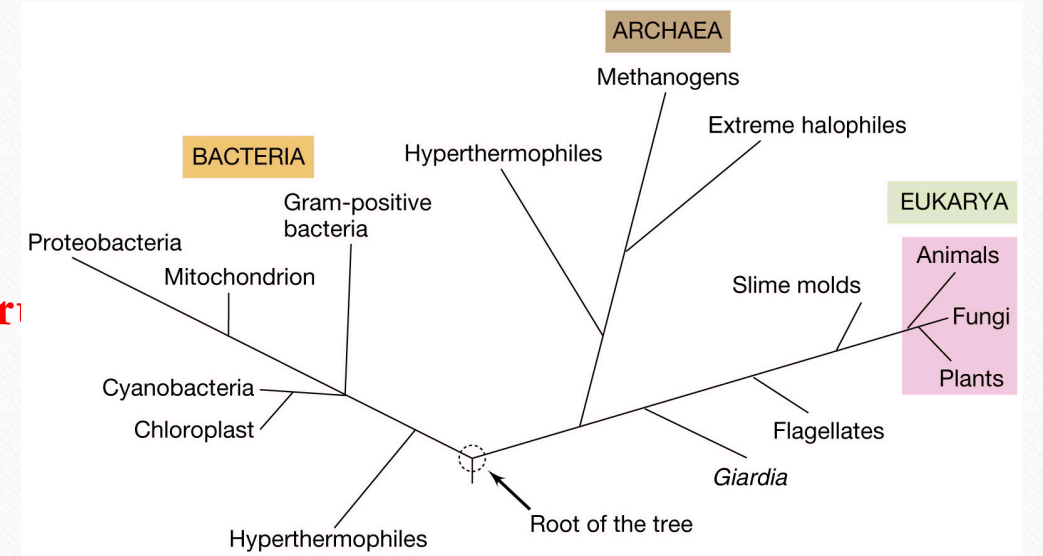
- Ribozomal RNA tüm canlı tiplerinde en az farklılık gösteren gen grubudur.
- Bu yüzden rRNA kodlayıcı genlerinin (rDNA) dizileri o organizmanın taksonomik grubunu belirlemekte kullanılır

- Ribozomal RNA (rRNA)'ya dayalı dizi analizi verilerine dayalı filogenetik ağaçta;

- **Bakteriler, Archaea ve Ökaryot Domain'ler**

ortaya konulmuştur

- **Biyolojik yaşamın üç ana Domain'ini oluşturur**



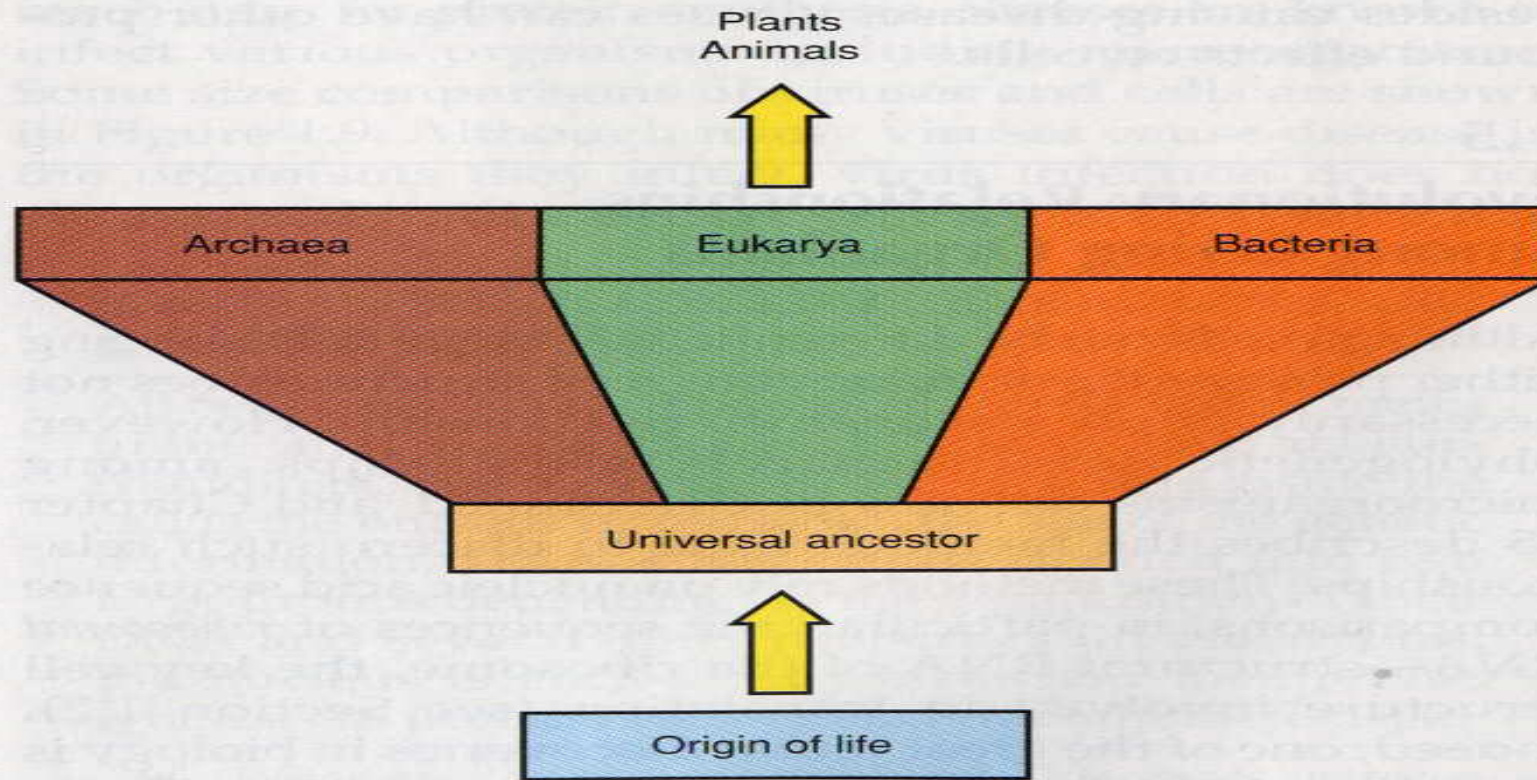


Figure 1.11 Cellular evolution as deduced from ribosomal RNA sequencing.

IV- Antijenik Klasifikasyon

- Bazı bakterilerin antijenik yapılarını esas alan bir klasifikasyon
 - **Antijenik analizlere dayanan sınıflandırma ancak tür içinde yararlıdır.**

Çünkü, cins veya türler içinde çok fazla antijenik değişimler ortaya çıkmaktadır. **O-, H- & K-Ag (serotip)**

 - **Presipitasyon, aglütinasyon, hemaglütinasyon**
- Örneğin, *S. pneumoniae*, kapsül yapısına göre 75'den fazla antijenik tipe,
- *P. multocida*, kapsüller polisakkaridlerine göre 4 antijenik tipe (A, B, C, D) ayrılır

V- Fajla Tiplendirme

- Türler içi veya türler arası ilişkiyi saptamada fajla tiplendirme de kullanılmaktadır.
- Aynı türe ait suşlar, kendilerine özgü fajlara göre gruplara ayrılabilir.

- Örneğin, *Staphylococcus aureus*, Salmonella, Brucella, Bacillus anthracis ve başka bakterilerin tanımlanmasında sahip oldukları bakteriyofajlara göre tiplendirme yöntemi kullanılmaktadır

VI- Kemotaksonomi

- Bakterilerin kimyasal yapılarını esas alır. İncelenebilen kimyasal karakterler arasında, başlıca, hücre duvar kompozisyonu, lipid kompozisyonu, çeşitli proteinlerin amino asit sıraları ve türleri, enzim karakterleri, pilus, flagella proteinlerinin kompozisyonları, vs. vardır.
- Daha az oranda spesifiktir, bakterilerde çok değişken olan yapısal özellikler nedeniyle genetik sınıflama kadar tutarlı bulunmamaktadır.
- Bakterilerin kimyasal yapıları ürettiği besi yerinin kimyasal yapısı, ozmotik basıncı, pH, vs. gibi çevresel koşullardan fazlaca etkilenmekte ve değişebilmektedir.

BAKTERİLERİN TEMEL KATEGORİLERİ VE GRUPLARININ TANIMLANMASI

- Bakterilerin taksonomik organizasyonu üzerindeki kesin çalışma,
- **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology** son baskısıdır.
- Tamamlayıcı bir cilt olan **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology** kültüre edilebilir bakterilerin tanımlanmasında yardımcı kaynak olarak hizmet etmektedir.

İki farklı prokaryotik organizma grubu, **eubacteria** ve **archaebacteria**

- Her ikisi de aseksüel olarak çoğalan küçük tek hücreli organizmalardır.
- Öbakteriler klasik bakterilerdir.
- Archaeobacteria, klasik bir peptidoglikan hücre duvarına sahip değildir ve ökaryotik hücrelerinkine benzer birçok özelliğe (örn., Protein sentezi ve nükleik asit replikasyonu sistemi) sahiptir.

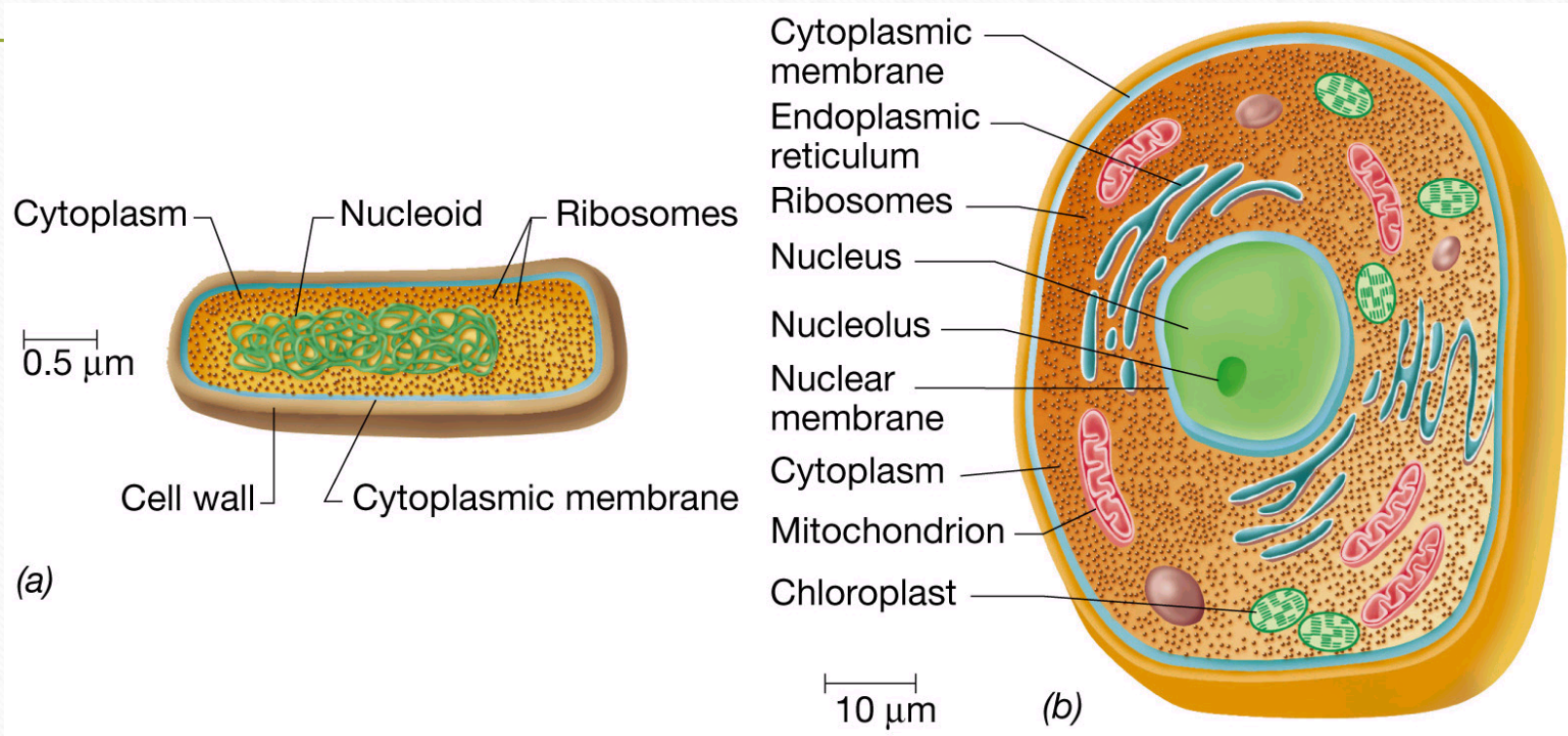
Bakteriler

- **Gram-Negatif Bakteriler**
- **Gram-Pozitif Bakteriler**
- **Hücre Duvarı olmayan Bakteriler**

Archaeobacteria

- Bu organizmalar, ağırlıklı olarak aşırı karasal ve sucul ortamların (yüksek tuz, yüksek sıcaklık, anaerobik) sakinleridir.
- Archaeobacteria, bir peptidoglikan hücre duvarı olmaması, izoprenoid dieter veya digliserin tetraeter lipidleri ve karakteristik ribozomal RNA sekanslarının olmamasıyla kısmen eubacteria'lardan ayırt edilebilir.
- Archaeobacteria ayrıca eubacteria ile bazı moleküler özellikleri paylaşmaktadır.
- Hücreler, küresel, spiral ve plaka veya çubuk şekilli olmak üzere çeşitli şekillere sahip olabilir;
- Tek hücreli ve çok hücreli formlar filamentler veya agregatlar da oluşturur.

Prokaryot-ökaryot



Prokaryot ve Ökaryotların Karşılaştırması

Characteristics	Prokaryotic	Eukaryotic
Types	bacteria (monerans)	protists, fungi, plants, and animals
Organization	unicellular	usually multicellular (exception some protists)
Cell size	small (0.1-10um)	larger (10-100um)
Membrane-bound organelles	Absent	present
Reproduction	asexual	asexual and sexual
DNA	circular	linear
Proteins assoc. with DNA	Basic	Histone
Plasma membrane	No sterols	Sterols
Ribosomes	70S	80S
Cytoskeleton	Absent	present

Prokaryot

- Archaeobacteria ve Eubacteria.
 - Membran organelleri bulunmaz.
 - DNA nükleoid bölgede yer alır.
 - Plasma membranı bulunur.
-
- Hücre duvarı peptidoglikan yapıdadır.
 - 70S ribosomu vardır.
 - **Flagella-flagellin proteini bulunur.**
 - Genellikle tek bir sirküler kromozomu bulunur.
 - **Haploid** – herbir genin bir kopyasına sahiptir.
 - Prokaryotiklerin çoğunluğu küçük miktarlarda ekstrakromozomal DNA (plazmid,..) içerir.
 - Genler intron içermezler
-
- Prokaryotlarda kaç tane gen vardır?
 - E. coli de 4.6 milyon baz çifti, 4300 gen bulunur.Diğer bakterilerde bu oran farklıdır

Ökaryot

- Hayvanlar, bitkiler, protistalar ve mantarlar
- Gerçek membran-bağlı organeller bulunur.
- Nukleusda DNA bulunur.
- Plazma membranı mevcuttur.
- Bitki ve bazı protistalar selüloz yapıda hücre duvarına sahiptir.
- Farklı ribozomları kullanırlar.
- Post-translasyonel modifikasyonlar mevcuttur.

Üç Hücresel Domain'in Karşılaştırması

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

TABLE 4.5 Comparison of Three Cellular Domains

Characteristic	Bacteria	Archaea	Eukarya
Cell type	Prokaryotic	Prokaryotic	Eukaryotic
Chromosomes	Single, or few, circular	Single, circular	Several, linear
Types of ribosomes	70S	70S but structure is similar to 80S	80S
Contains unique ribosomal RNA signature sequences	+	+	+
Number of sequences shared with Eukarya	One	Three	(All)
Protein synthesis similar to Eukarya	—	+	
Presence of peptidoglycan in cell wall	+	—	—
Cell membrane lipids	Fatty acids with ester linkages	Long-chain, branched hydrocarbons with ether linkages	Fatty acids with ester linkages
Sterols in membrane	— (some exceptions)	—	+