

Занятие 5

Морфология, ультраструктура и классификация спирохет, риккетсий, хламидий, микоплазм и актиномицет
Окраска по методу Романовского-Гимзы

Обсуждаемые вопросы:

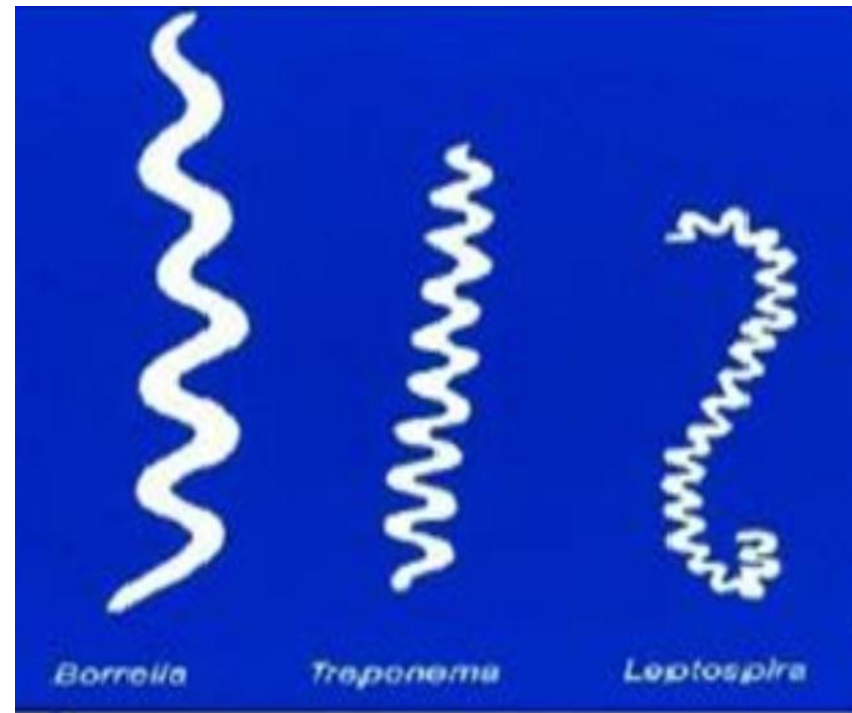
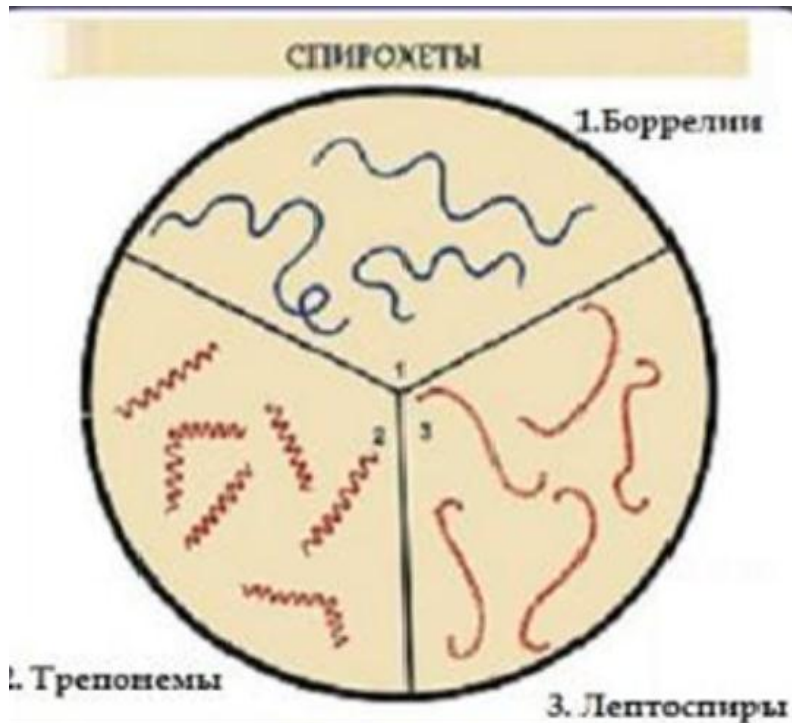
- 1. Классификация, ультраструктура и морфология спирохет.
- 2. Дифференциация трепонем, бореллий и лептоспир по морфологическим свойствам
- 3. Особенности спирохет. Окраска по методу Гимзы
- 4. Патогенные для человека виды спирохет (*Treponema*, *Borrelia* и *Leptospira*).
- 5. Классификация, ультраструктура и морфология риккетсий.
- 6. Особенности риккетсий. Окраска по методу Гимзы
- 7. Патогенные для человека виды риккетсий (*Rickettsia*, *Orientia*, *Coxiella*, *Ehrlichia*)
- 8. Классификация, ультраструктура и морфология хламидий.
- 9. Особенности хламидий. Окраска по методу Гимзы
- 10. Патогенные для человека виды хламидий (*Chlamydia trachomatis*, *C.psittaci*, *C.pneumoniae*).
- 11. Классификация, ультраструктура и морфология микоплазм.
- 12. Особенности микоплазм. Методы изучения их морфологии
- 13. Патогенные для человека виды микоплазм (*Mycoplasma* и *Ureaplasma*).
- 14. Классификация, ультраструктура и морфология актиномицетов.
- 15. Особенности актиномицетов. Методы изучения их морфологии
- 16. Патогенные для человека виды актиномицетов (*Actinomycetaceae*, *Nocardiaceae* и *Streptomycetaceae*).

Цель занятия:

- дать студентам информацию о спирохетах, риккетсиях, хламидиях, микоплазмах и актиномицетах, их современной классификации, морфо-биологических особенностях и ультраструктуре. Ознакомить с методами окраски этих микроорганизмов и значением этих методов в диагностике.

Спирохеты

**СПИРОХЕТЫ (SPERIA-ИЗВИТОК, СПАЙТЕ-ВОЛОС)
СПИРАЛЕВИДНЫЕ, ИЗВИТЫЕ, ПОДВИЖНЫЕ
БАКТЕРИИ.**



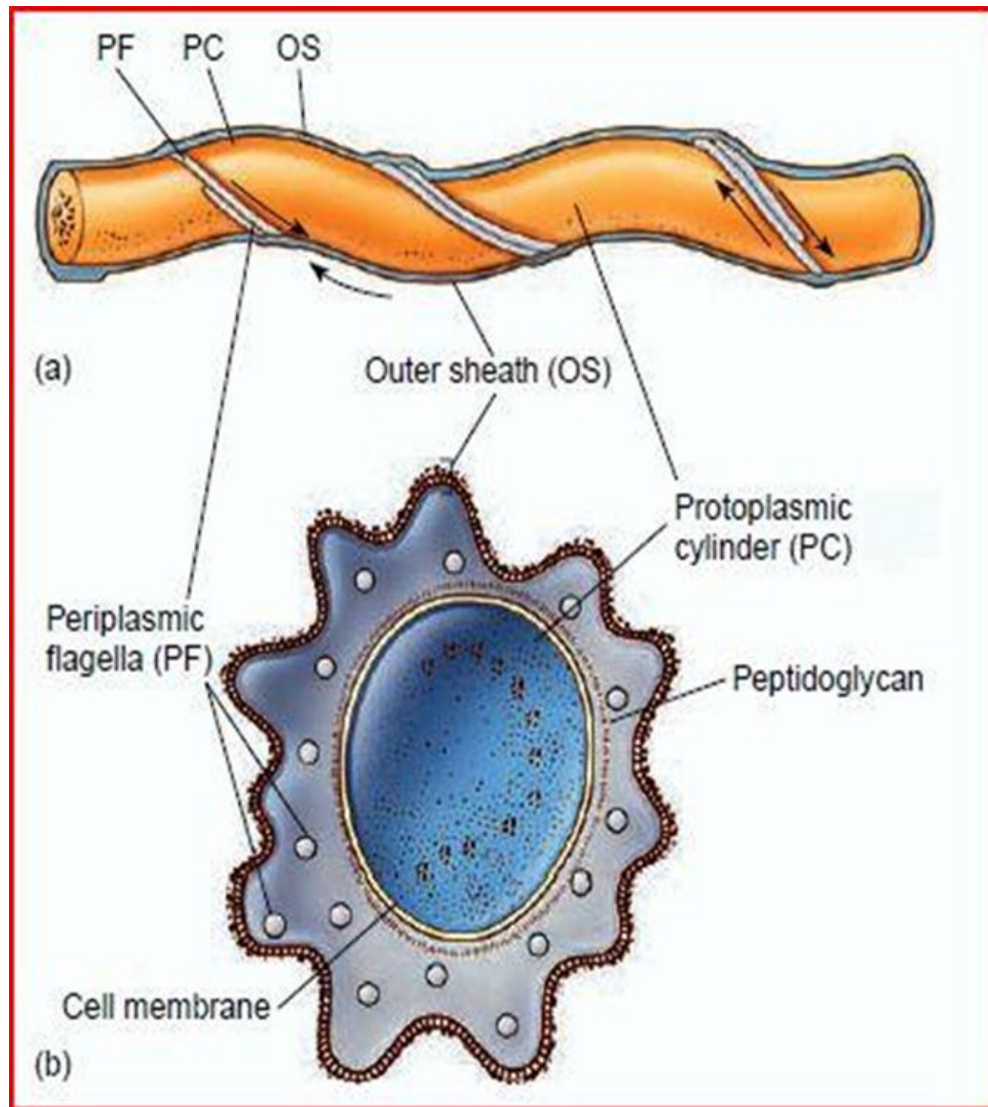
Строение спирохет

Spirea-завиток, chaite- волос означает

Спирохеты -спиралевидные, извитые, активно подвижные микроорганизмы.

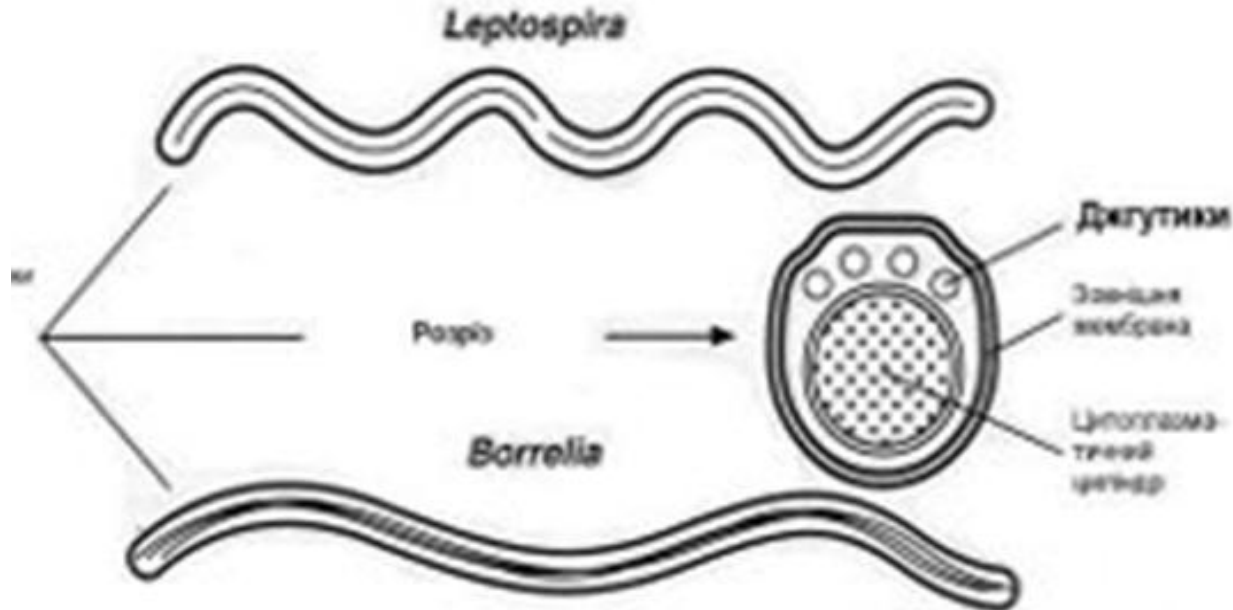
Длина от 5 мкм до 500 мкм, а ширина 0,2-0,8 мкм.

Спирохеты занимают промежуточное положение между бактериями и простейшими. Размножаются путем поперечного деления.



Строение спирохет

- Спирохеты покрыты наружной оболочкой (глюкозаминогликаном). Под оболочкой находится наружная мембрана представленная пептидогликаном.
- Жгутики (эндофлагеллы) находятся в периплазматическом пространстве и обеспечивают движение спирохет.
- Под жгутиками находится цитоплазматическая мембрана.
- В цитоплазме так же, как и у всех бактерий имеются нуклеоид, рибосомы и включения.

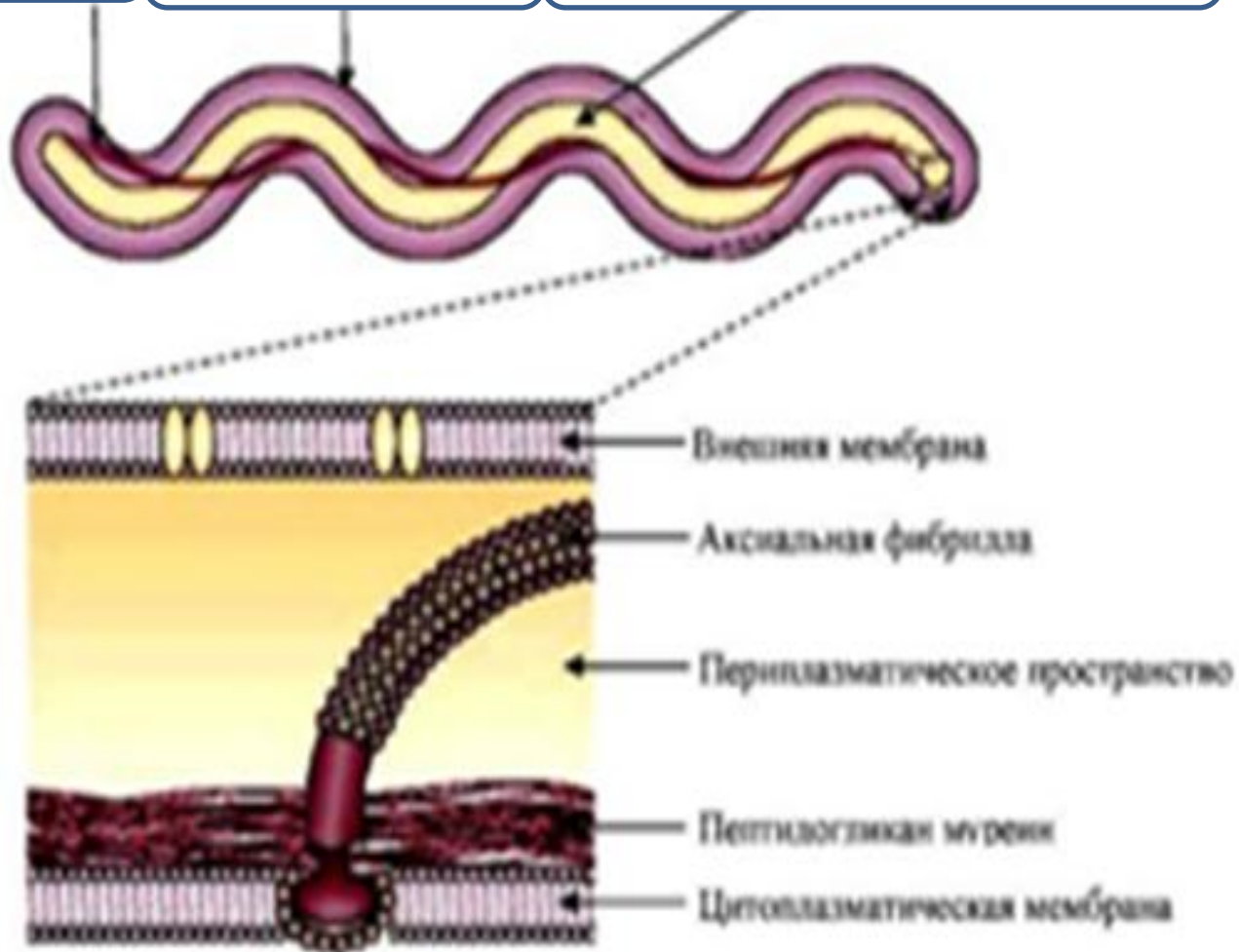


Строение спирохет

ЖГУТИК

НАРУЖНАЯ
ОБОЛОЧКА

ПЕРИПЛАЗМАТИЧЕСКОЕ
ПРОСТРАНСТВО



РЯД

Spirochaetales

ПОРЯДОК

Leptospiraceae

ПОРЯДОК

Spirochaetaceae

РОД

Leptospira

РОД

Treponema

РОД

Borrelia

ВИД

L. interrogans

СЕРОТИП

- *L. icterohaemorrhagiae*
- *L. canicola*
- *L. pomona*
- *L. grippityphosa*

ВИД

- *T. pallidum*
- *T. pertenue*
- *T. carateum*
- *T. bejel*

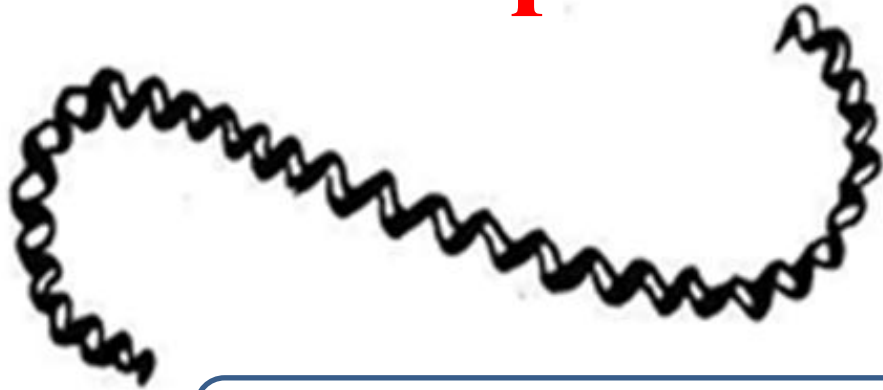
ВИД

- B. recurrentis*
- B. persica*
- B. caucasica*
- B. burgdorferi*

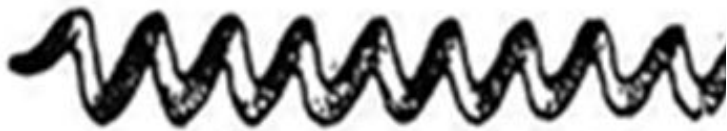
Морфология спирохет

РОД	КОЛИЧЕСТВО ЗАВИТКОВ И СВОЙСТВА	ДВИЖЕНИЕ	ОКРАСКА ПО РОМАНОВСКОМУ-ГИМЗЕ
BORRELIA	3-10 НЕРАВНОМЕР- НЫХ ЗАВИТКОВ	ВРАЩАТЕЛЬНОЕ ИЗГИБАТЕЛЬНОЕ	ГОЛУБОВАТО-СИРЕНЕВЫЕ
TREPONEMA	8-12 ОДИНАКОВОГО РАЗМЕРА ЗАВИТКОВ, РАССТОЯНИЕ МЕЖДУ НИМИ 1 МКМ	АКТИВНОЕ, ВРАЩАТЕЛЬНОЕ И ПОСТУПАТЕЛЬНОЕ	БЛЕДНО-РОЗОВЫЕ
LEPTOSPIRA	20-40 ЗАВИТКОВ, КОНЕЧНЫЕ ИЗВИВАЯСЬ ОБРАЗУЮТ ПЕТЛИ	АКТИВНОЕ, ПОСТУПАТЕЛЬНОЕ	РОЗОВО-СИРЕНЕВЫЕ

Морфология спирохет



ЛЕПТОСПИРА



ТРЕПОНЕМА

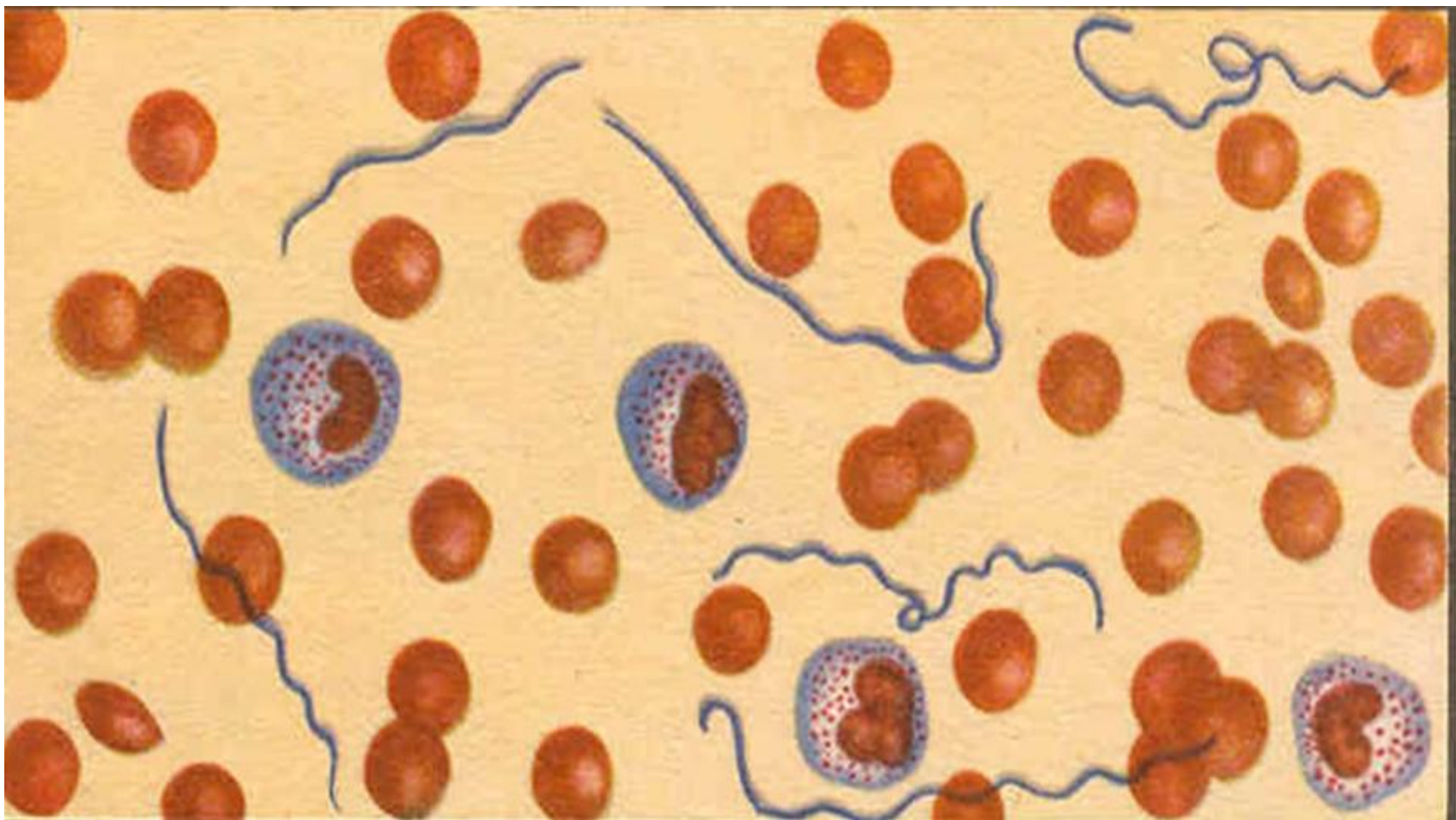


БОРРЕЛИЯ

Морфология спирохет

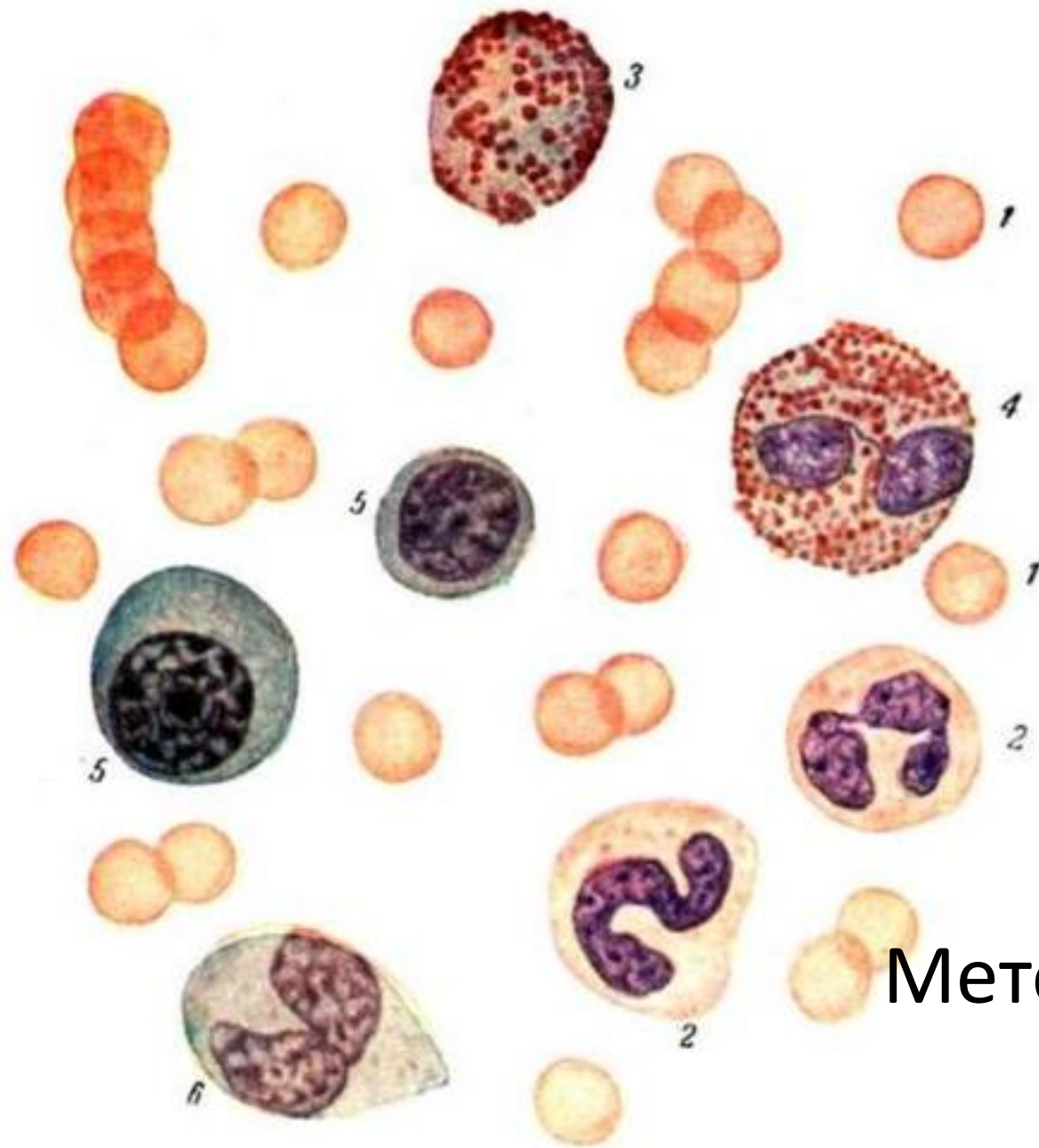
- Морфология спирохет изучается под световым микроскопом окрашенных препаратов.
- Спирохеты также изучают в нативных мазках под **фазово-контрастным** или **темнопольным** микроскопами.
- Боррелии хорошо воспринимают анилиновые красители в отличии от трепонем и лептоспир, поэтому применяют особые методы окраски. Чаще пользуются методом **Романовского-Гимзы**.
- Трепонемы выявляют методом **серебрения**. В этом методе клеточная стенка пропитывается серебром, что улучшает видимость.
- Спирохеты также можно изучить под люминесцентным микроскопом методом **иммунофлюоресценции**.

Спирохеты в мазке крови (окраска по методу Романовского-Гимзы)



Метод Романовского-Гимзы

- Краситель состоит из основной фазы (азур II-темно-синий) и кислой фазы (эозин-розово-красный)
- В данном методе используют готовую краску. В этом случае заранее готовится рабочий раствор, для этого 1 каплю красителя разбавляют в 1 мл дистиллированной воды
- Высушенный, фиксированный мазок выдерживают в красителе в течение 25-40 минут



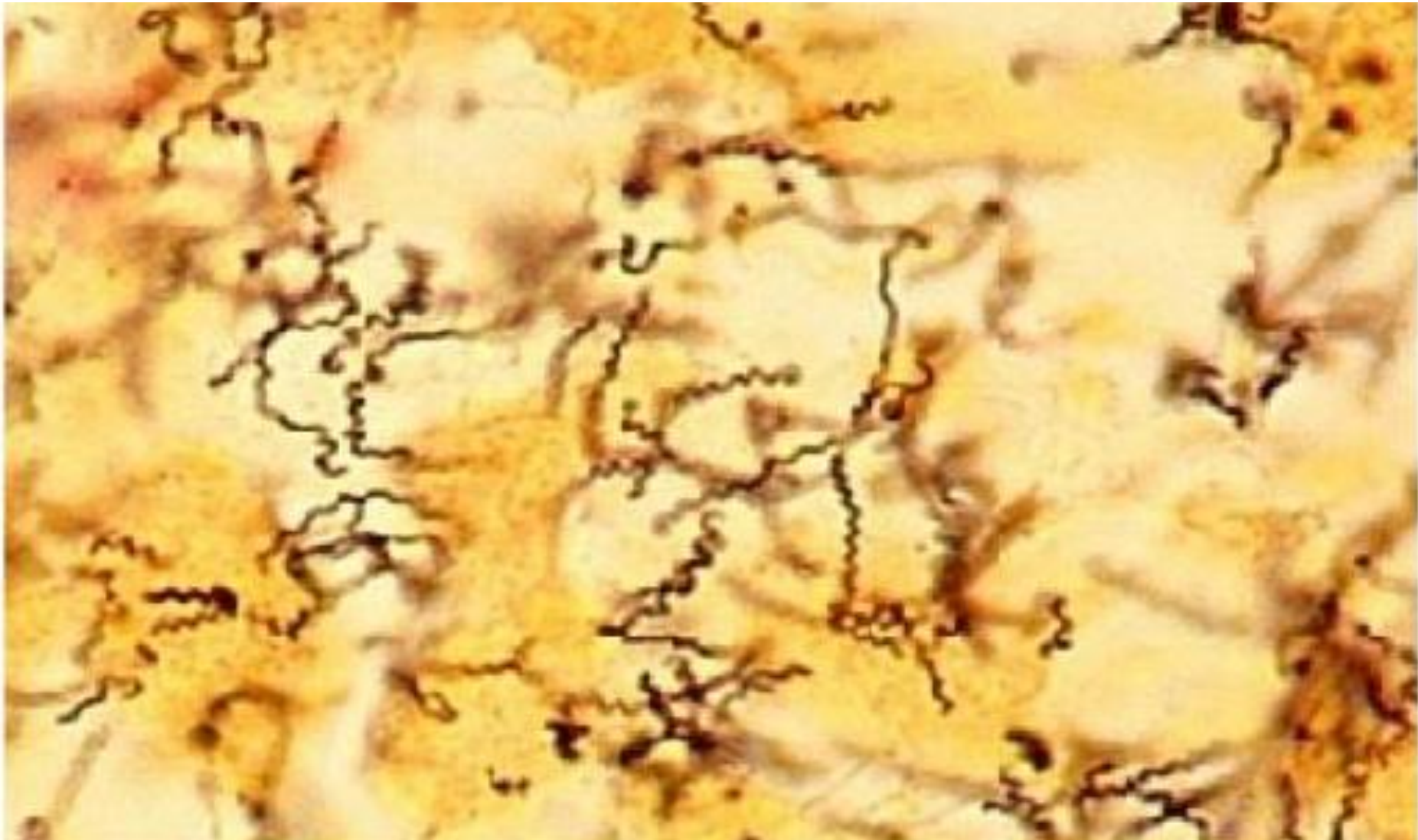
1. Эритроциты
2. Нейтрофилы
3. Базофилы
4. Эозинофилы
5. Лимфоцит
6. Моноцит

Мазок крови
Метод Романовского-
Гимзы

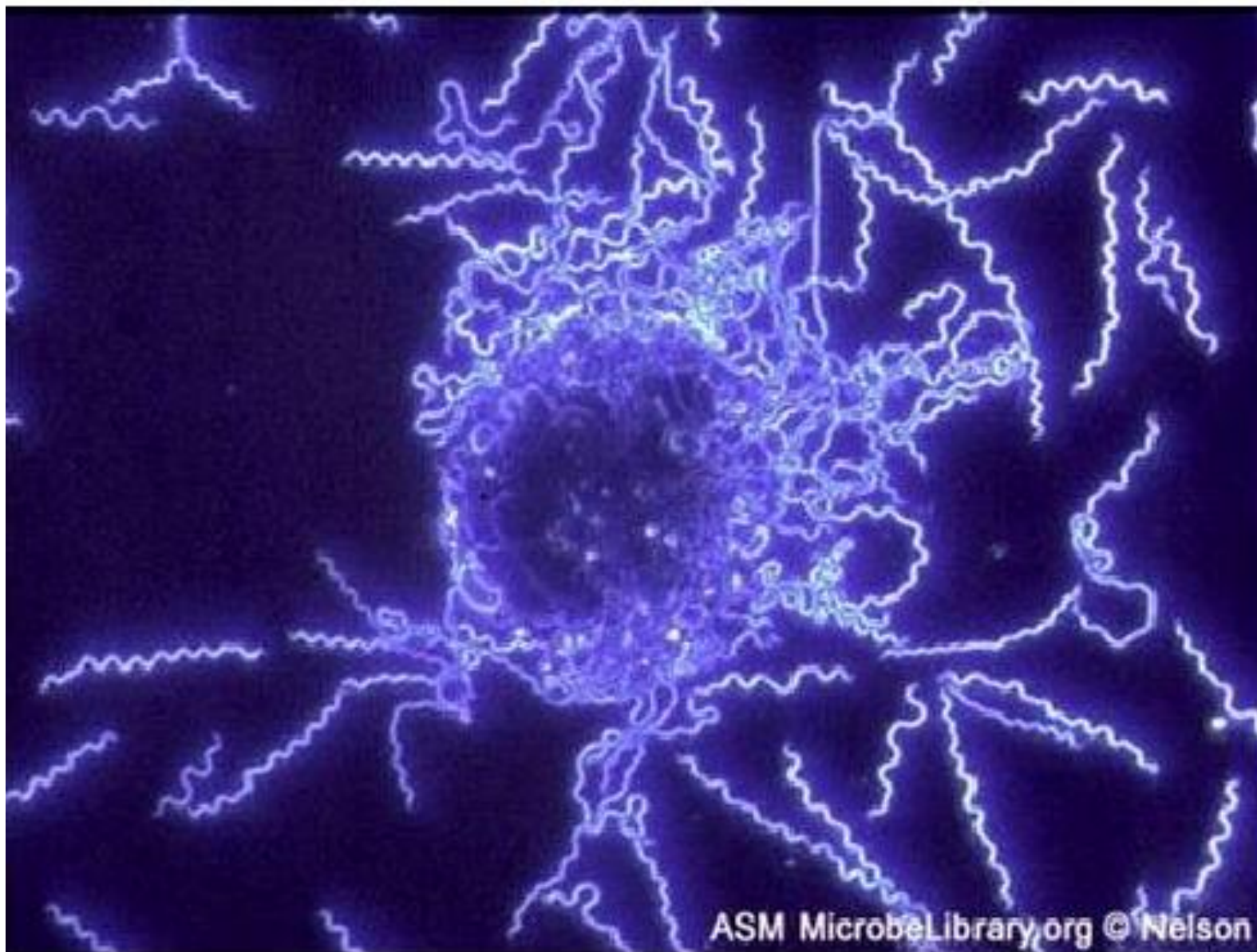
Методы изучения морфологии спиروهет (темнопольная микроскопия)



Методы изучения морфологии спирохет (метод серебрения)



Боррелии (люминесцентная микроскопия)

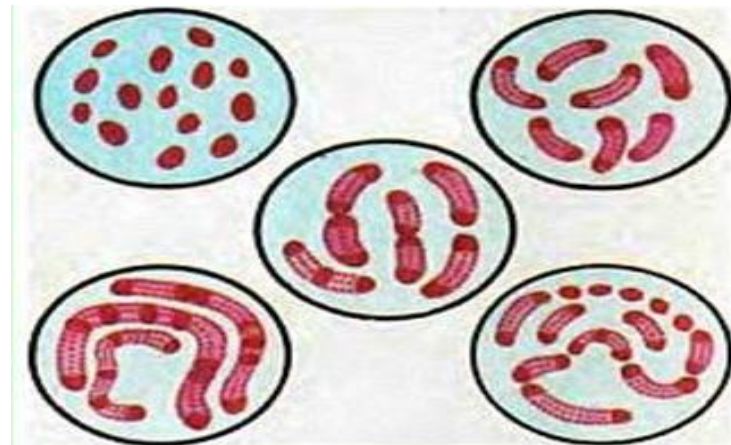
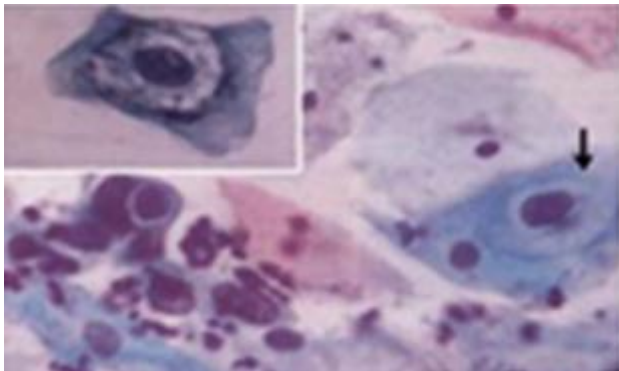


Риккетсии

Риккетсии - грамотрицательные кокковидные или палочковидные микроорганизмы, прокариоты.

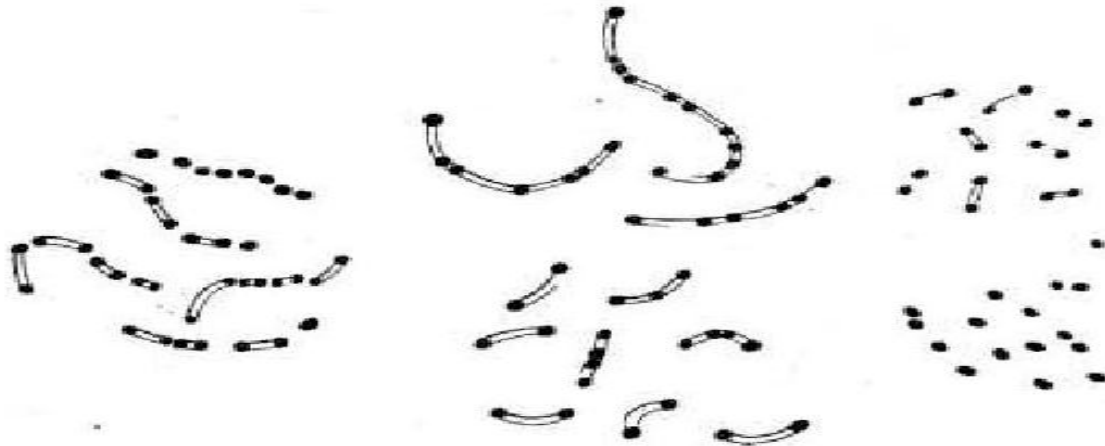
В основном внутриклеточные паразиты, поэтому на искусственных питательных средах не культивируются. Размножаются путем простого деления в клетках хозяина.

По морфологическим признакам риккетсии схожи с бактериями, а по биологическим (не культивируются на искусственных питательных средах) - на вирусы.



Риккетсии

Полиморфные - одиночные, парные, иногда расположенные цепочками, кокковидные, палочковидные, редко нитевидные. Образуют на поверхности клетки слизь и микрокапсулу, неподвижные.



Ультраструктура риккетсий.

Риккетсии – грамотрицательные бактерии, имеют клеточную стенку, цитоплазматическую мембрану и цитоплазму. В цитоплазме находятся нуклеоид, рибосомы, мезосомы. В клеточной стенке как и у бактерий выявляют глюкозамин, мурамовую и диаминопимелиновую кислоты.

Риккетсии

электронная микроскопия



Таксономия риккетсий

- Тип – Proteobacteria
- Класс – Alphaproteobacteria

Вид – **Rickettsia** (возбудители сыпного тифа и пятнистой лихорадки)

Orientia (возбудитель болезни Цуцугамуши)

Ehrlichia (Эрлихиоз, Сенетсу и др. возбудители)

Bartonella (возбудитель болезни «кошачьих царапин» , пароксизмальная лихорадка (**febris wolhynica**))

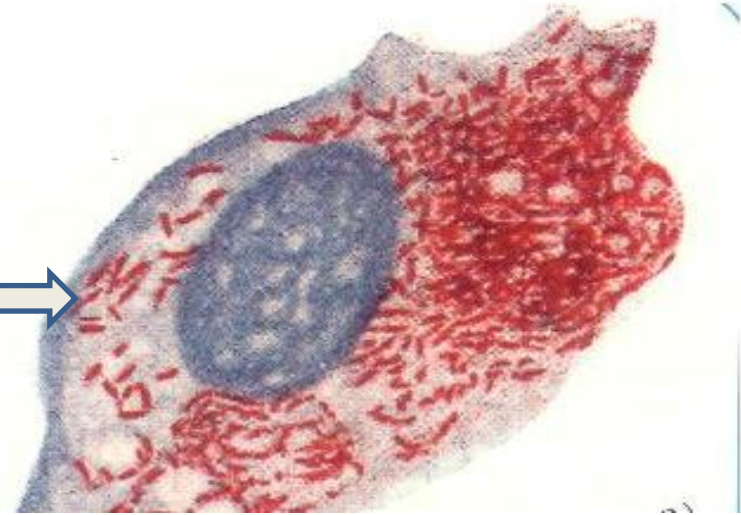
- Класс – Gammaproteobacteria

Вид - **Coxiella** (возбудитель Ку-лихорадки)

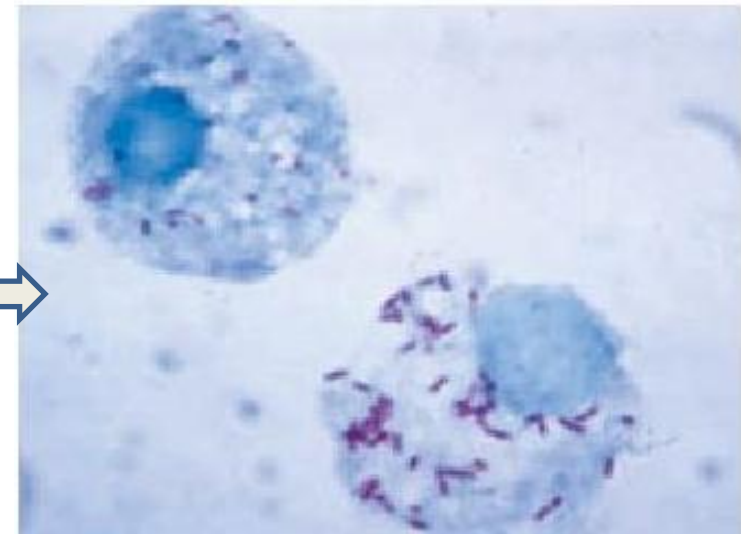
Для человека патогенны: **10** видов риккетсий, **1** вид ориенций, **3** вида эрлихий, **5** видов бартонелл и **1** вид коксиелл.

Методы выявления риккетсий

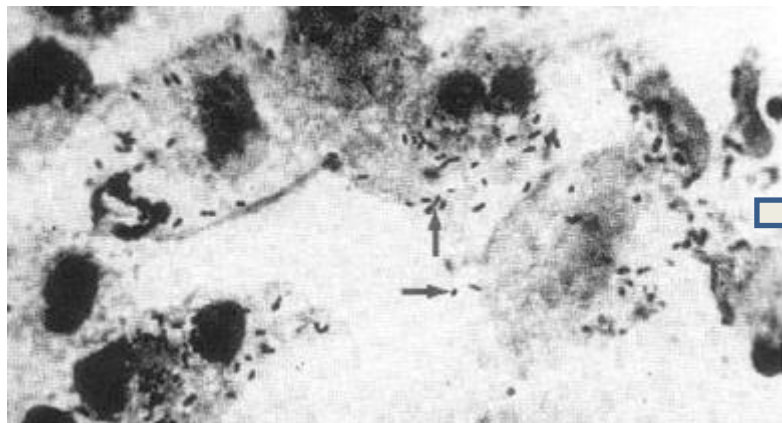
**СЛАБО ОКРАШИВАЮТСЯ
ПО МЕТОДУ ГРАМА,
ХОРОШО ОКРАШИВАЮТСЯ
МЕТОДАМИ
РОМАНОВСКОГО-ГИМЗЫ,
ГИМЕНЕСА И
ЗДРОДОВСКОГО (КРАСНЫЕ
ЧАСТИЦЫ НА ГОЛУБОМ
ФОНЕ).**



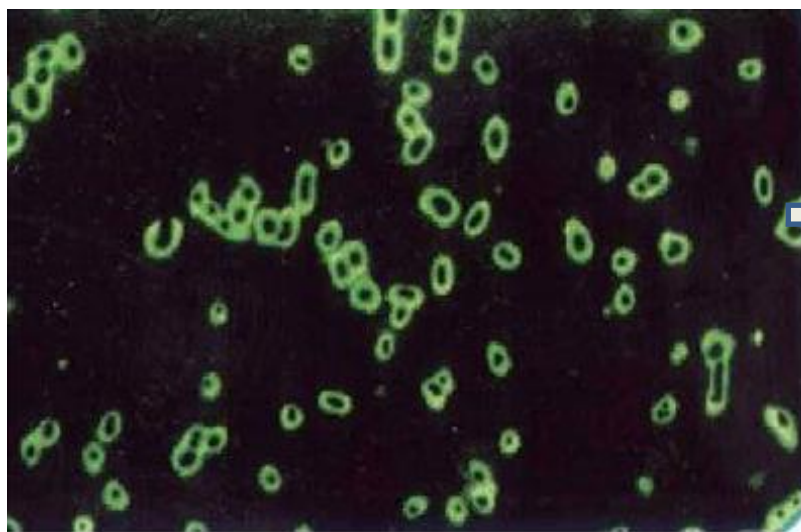
**РИККЕТСИИ ТАКЖЕ
ВОЗМОЖНО ОКРАСИТЬ ПО
МЕТОДУ МОРОЗОВА, ОНИ
ОКРАШИВАЮТСЯ В ТЕМНО-
КОРИЧНЕВЫЙ ИЛИ ЧЕРНЫЙ
ЦВЕТ.**



Методы выявления риккетсий



**РИККЕТСИИ МОЖНО
ОБНАРУЖИТЬ В НАТИВНЫХ
МАЗКАХ С ПОМОЩЬЮ
ФАЗОВО-КОНТРАСТНОЙ
МИКРОСКОПИИ.**



РИФ

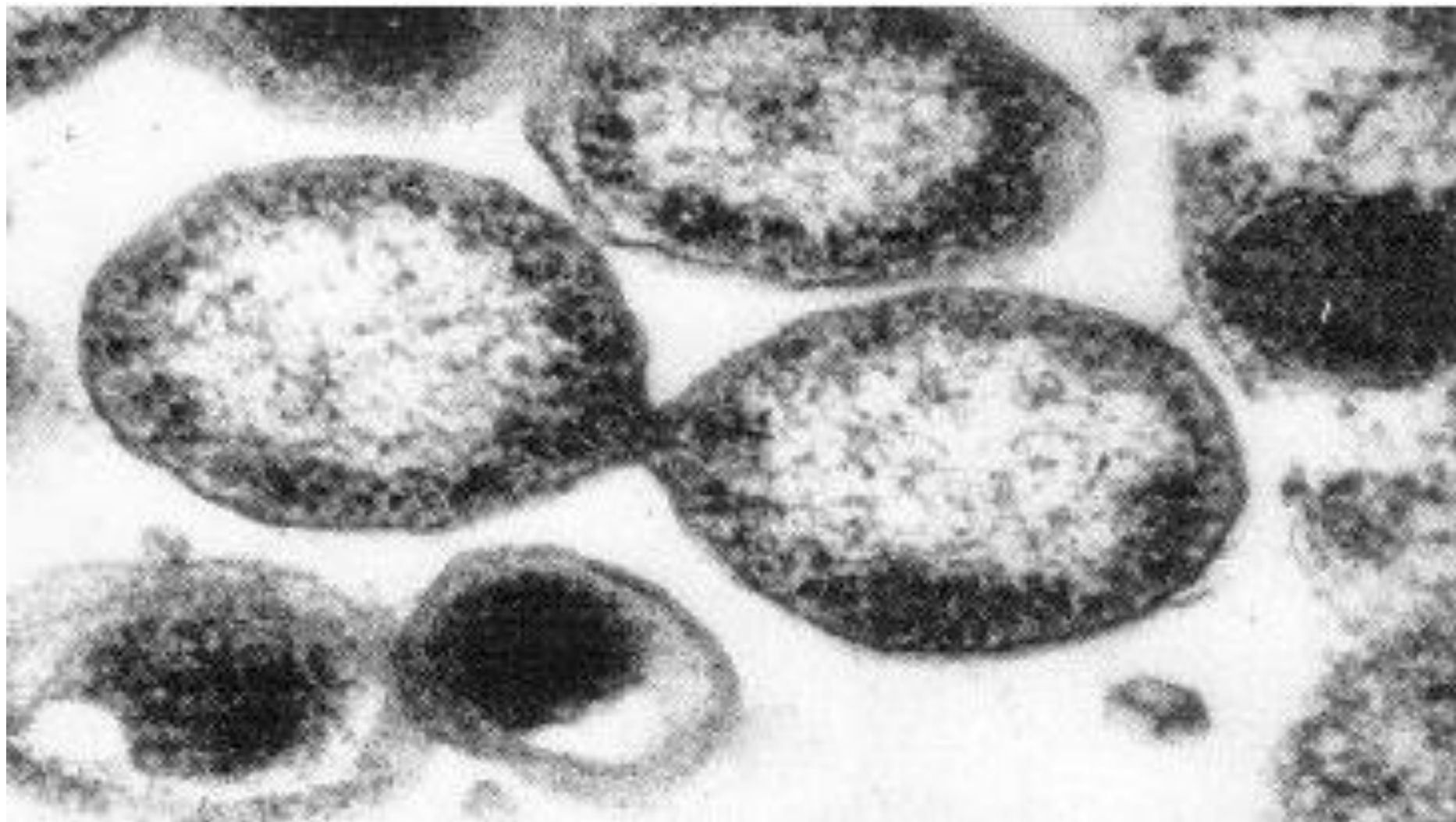
Хламидии

- Грамотрицательные бактерии.
- Облигатные внутриклеточные паразиты, не культивируются на искусственных питательных средах.
- Входят в порядок Chlamydiales
- Патогенные представители вызывают у человека трахому, орнитоз, пневмонию и др. заболевания.

Структура хламидий

- Коковидные, имеют ригидную клеточную стенку и цитоплазматическую мембрану как у грамотрицательных бактерий. Цитоплазма содержит нуклеоид и рибосомы.
- По строению клеточной стенки хламидии похожи на грамотрицательные бактерии, только отличаются по строению пептидогликана.
- Отсутствует основной компонент пептидогликана **N-ацетилмурамовая** кислота

Хламидии (электронная микроскопия)

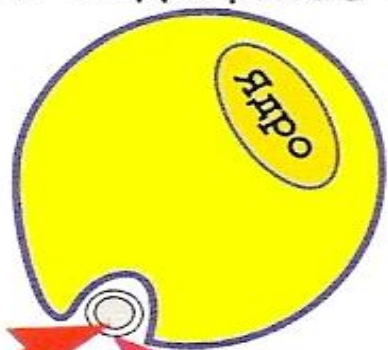


Цикл развития хламидий

- Хламидии размножаются проходя сложный цикл внутри клетки- хозяина.
- Внеклеточные формы называются **элементарными тельцами** сферической формы.
- Элементарные тельца попадая в клетку-хозяина превращаются в **ретикулярные тельца**, затем путем простого деления превращаются в промежуточные формы, которые в дальнейшем переходят в элементарные тельца.
- После разрушения клетки- хозяина хламидии проникают в новые клетки и цикл повторяется заново

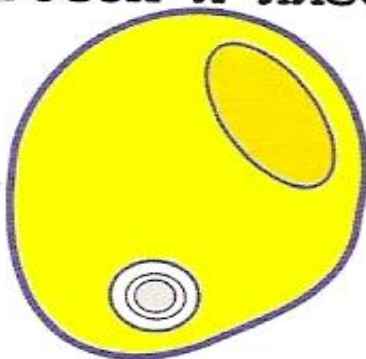
Репликативный цикл *Chlamydia trachomatis*

прикрепление
и эндоцитоз ЭТ

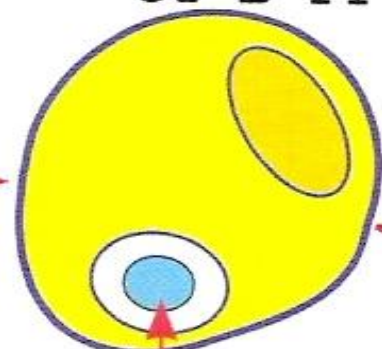


элементарное
тельце (ЭТ)

подавление слияния
фагосом и лизосом

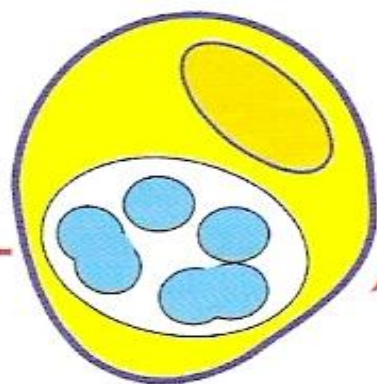


дифференцировка
ЭТ в РТ



ретикулярное
тельце (РТ)

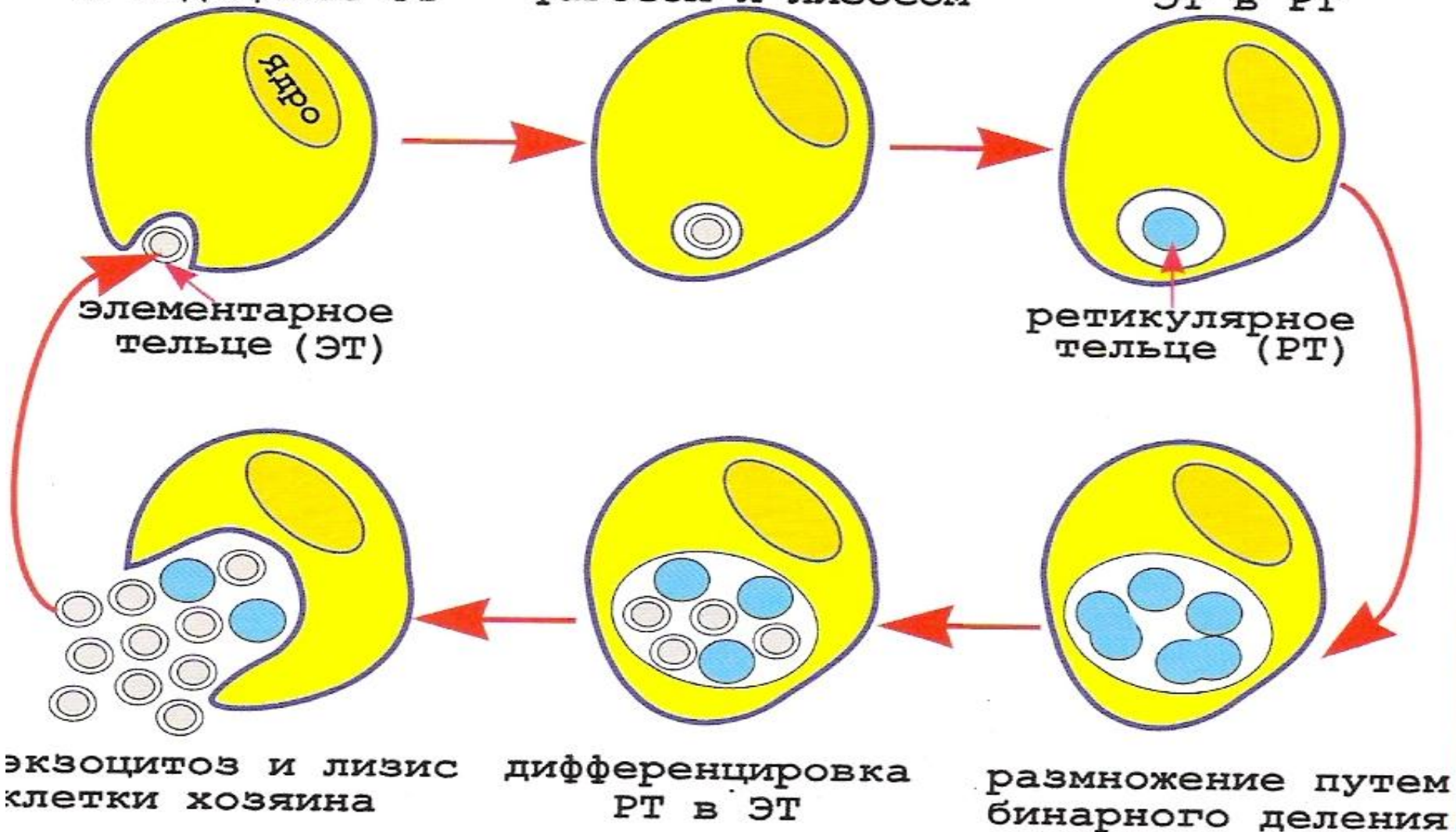
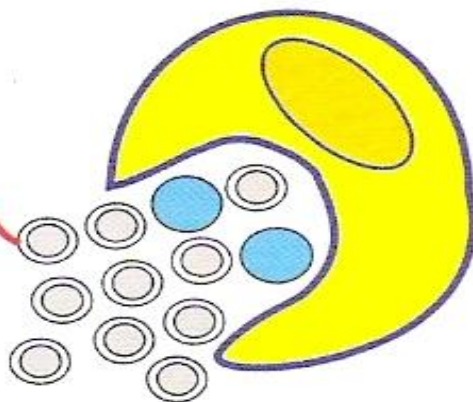
размножение путем
бинарного деления



дифференцировка
РТ в ЭТ

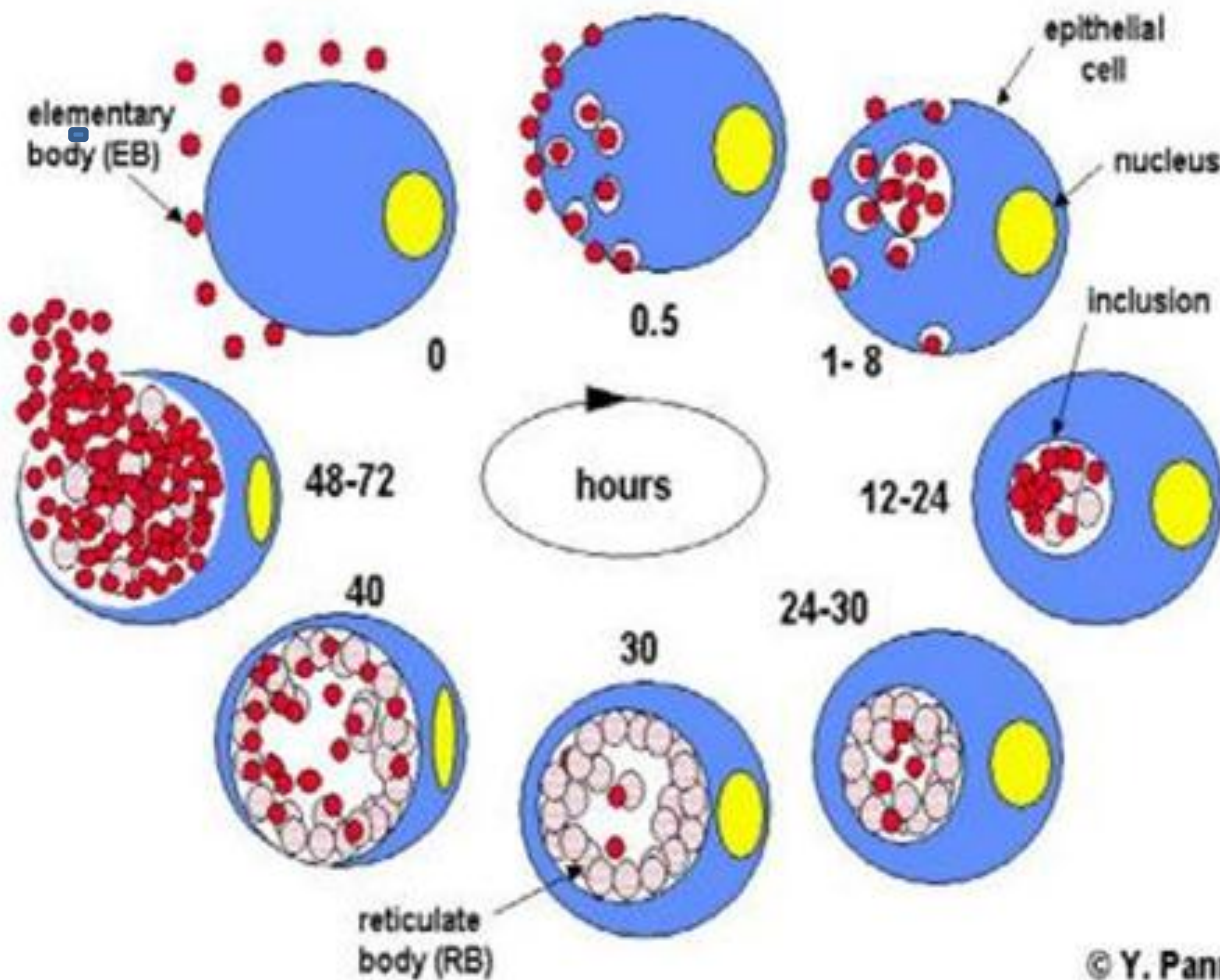


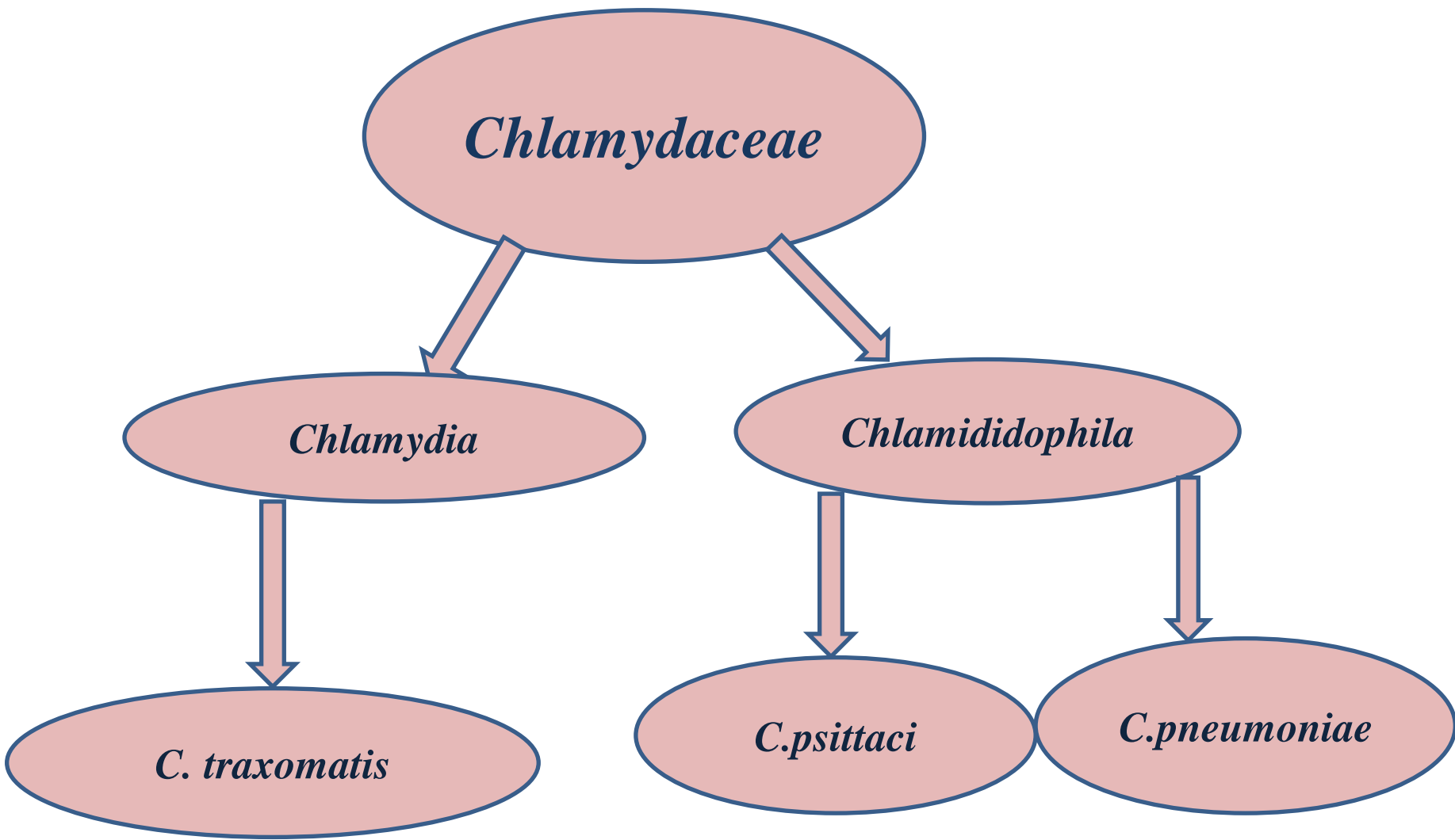
экзоцитоз и лизис
клетки хозяина



Цикл развития хламидий

Developmental cycle of *C. trachomatis*





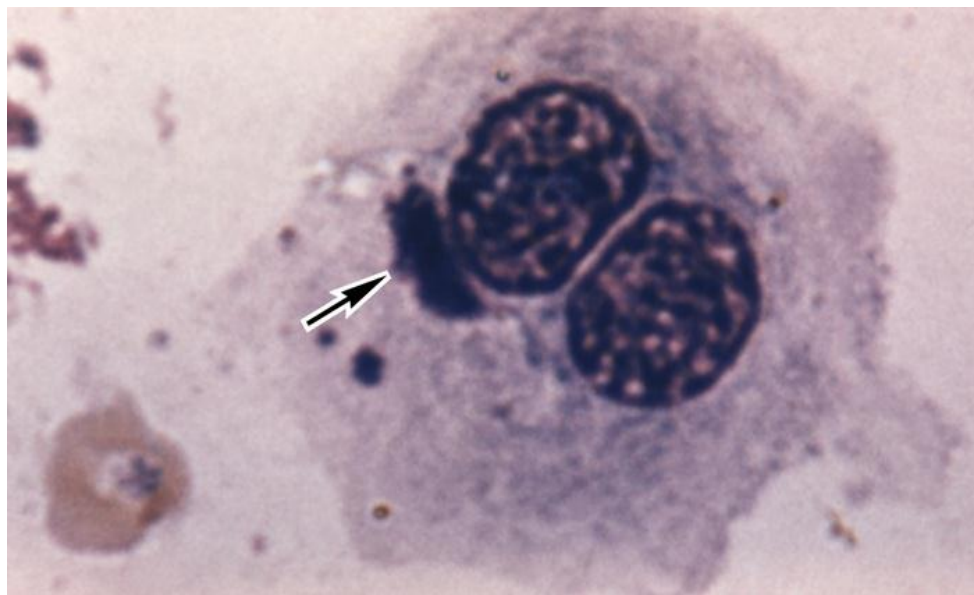
Методы выявления хламидий

- Хламидии хорошо принимают анилиновые красители, но из-за мелких размеров их сложно различить в световом микроскопе .
- Внутриклеточные формы (ретикулярные тельца) выявляются как включения в цитоплазме клетки или окружают ядро как мантия (отсюда и название). Их выявляют окраской по Романовскому-Гимзе.

Методы выявления хламидий

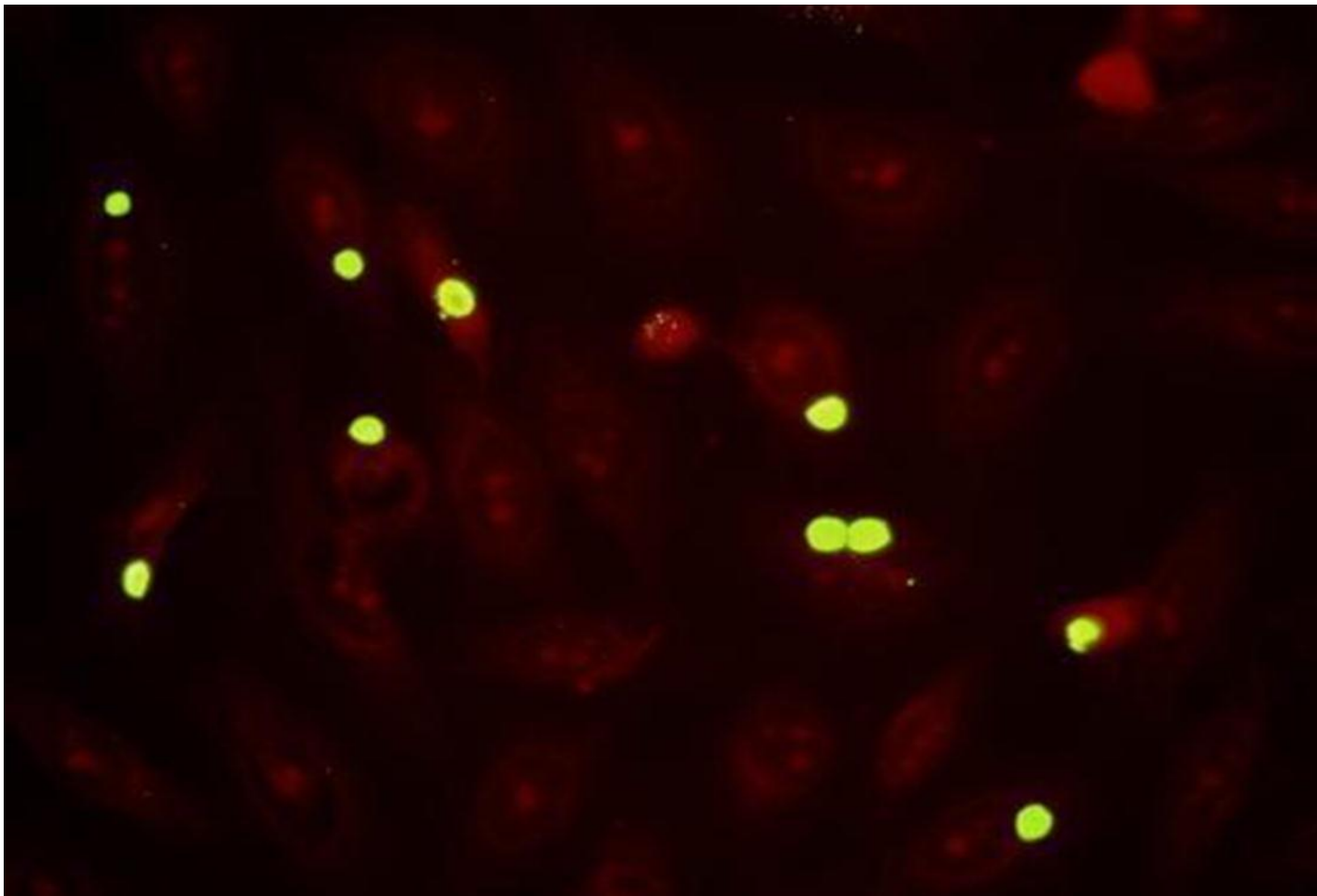
- В зависимости от цикла развития , хламидии при окраске по Романовскому-Гимзе окрашиваются в разный цвет:
- ЭТ- пурпурные, четко видны на голубом фоне цитоплазмы;
- РТ- голубого цвета

Внутриклеточные включения в клетках-хозяина (метод Романовского-Гимзы)



Хламидии

Люминисцентная микроскопия

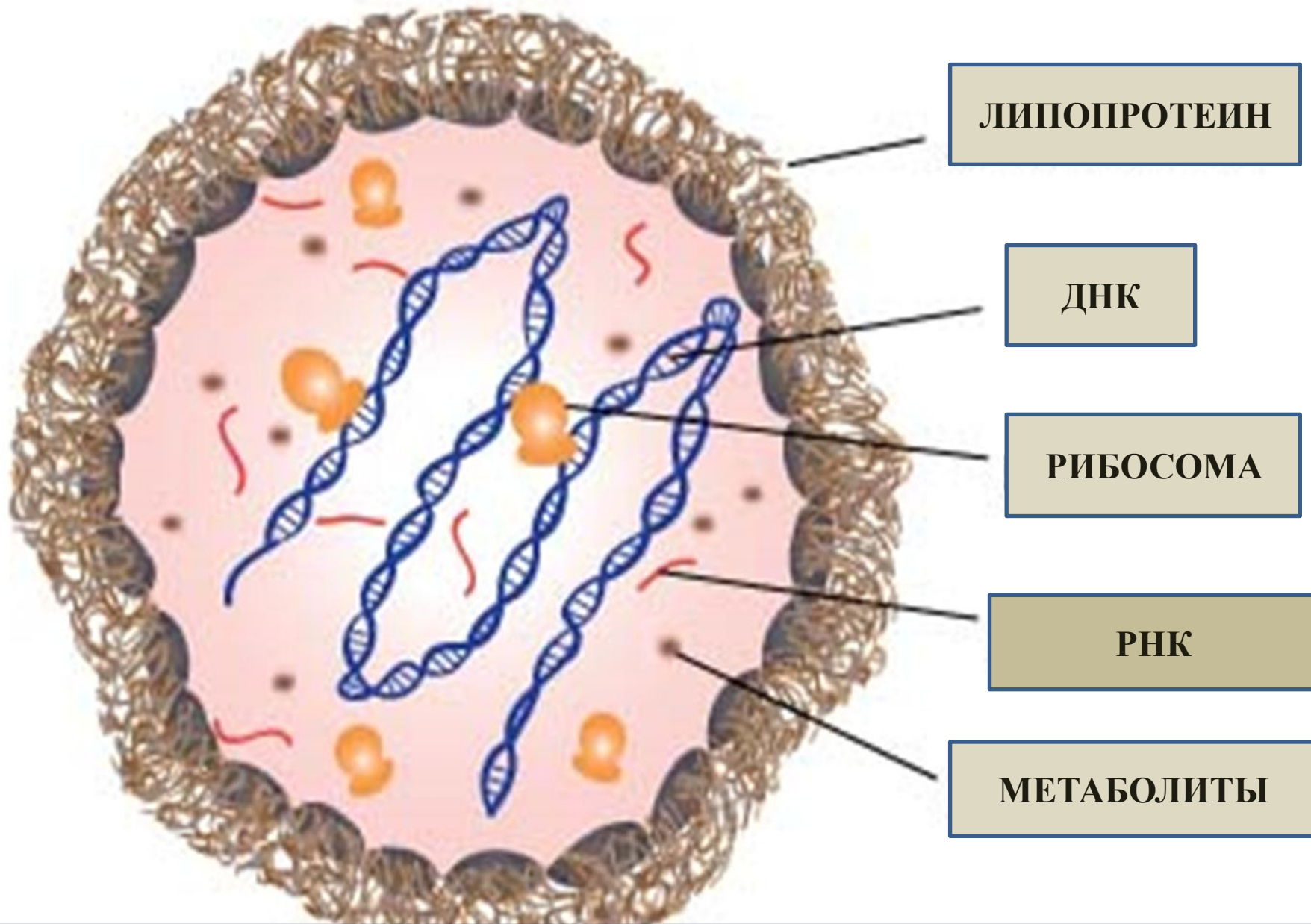


Микоплазмы

- **Микоплазмы** (*mykes-гриб, plasma-форма*) микроорганизмы, не имеющие клеточной стенки, прокариоты.
- Впервые выявлены в плевральной жидкости у коров с плевропневмонией, поэтому получили название pleuropneumonia-like organisms (PPLO).
- Входят в класс *Mollicutes* (*mollis-мягкий, cutis-кожа*) ряд *Mycoplasmatales*.
- Для человека патогенны *Mycoplasma* и *Ureaplasma*.

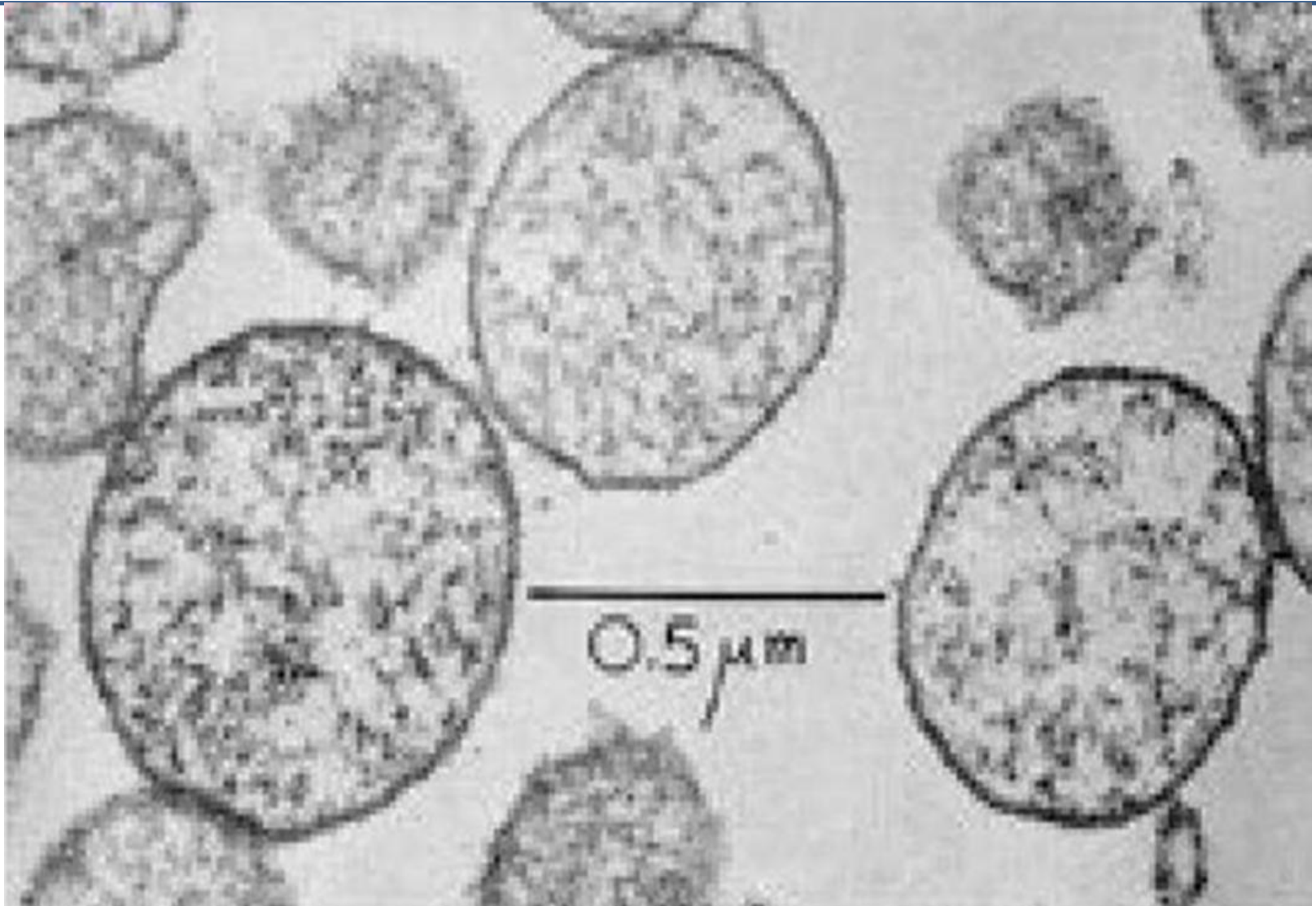
Морфология микоплазм

- Из-за отсутствия клеточной стенки микоплазмы не имеют постоянной формы - обладают полиморфизмом - от мелких до крупных сферических, нитевидных с разветвлениями до 150 мкм или мицелиоподобных форм.
- В экспоненциальной стадии развития образуют сферические или овальные формы, в дальнейшем переходят в нитевидные формы. Окрашиваются по **Романовскому-Гимзе**. Встречаются подвижные и неподвижные формы.



У МИКОПЛАЗМ ОТСУТСТВУЕТ КЛЕТОЧНАЯ СТЕНКА

**Электронная микроскопия микоплазм
(Видимость трехслойной цитоплазматической мембраны)**



Классификация микоплазм.

MOLLICUTES

```
graph TD; A([MOLLICUTES]) --> B([MYCOPLASMATALES]); B --> C([MYCOPLASMA]); B --> D([UREAPLASMA]);
```

MYCOPLASMATALES

MYCOPLASMA

UREAPLASMA

Таксономия микоплазм

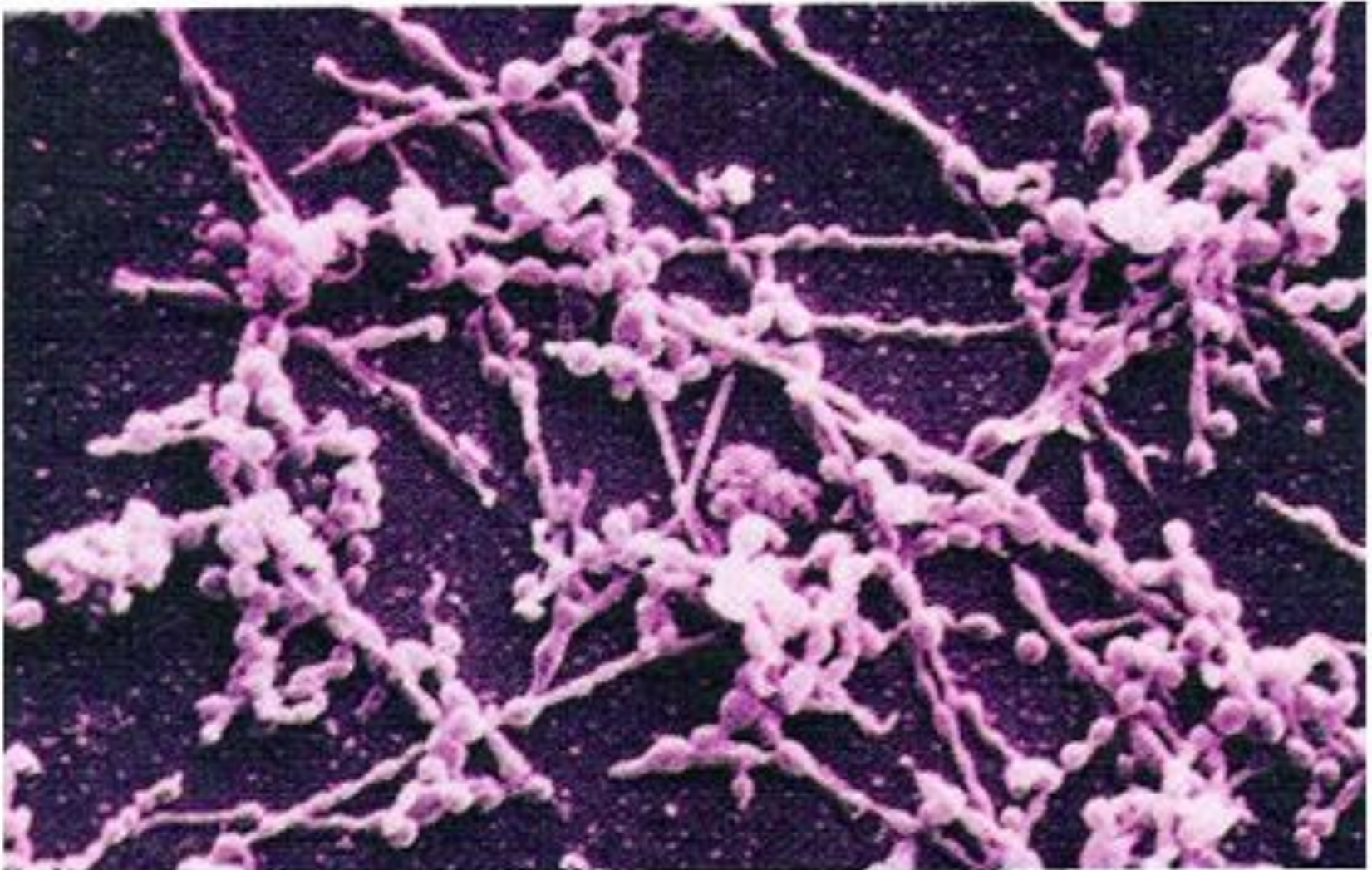
- Тип – Firmicutes
- Класс- Mollicutes
- Род– *Mycoplasma*

Вид– *M.pneumoniae* (возбудители пневмонии), *M.hominis*, *M.fermentans*, *M.genitalium* (урогенитальный микоплазмоз)

- Род- *Ureaplasma*

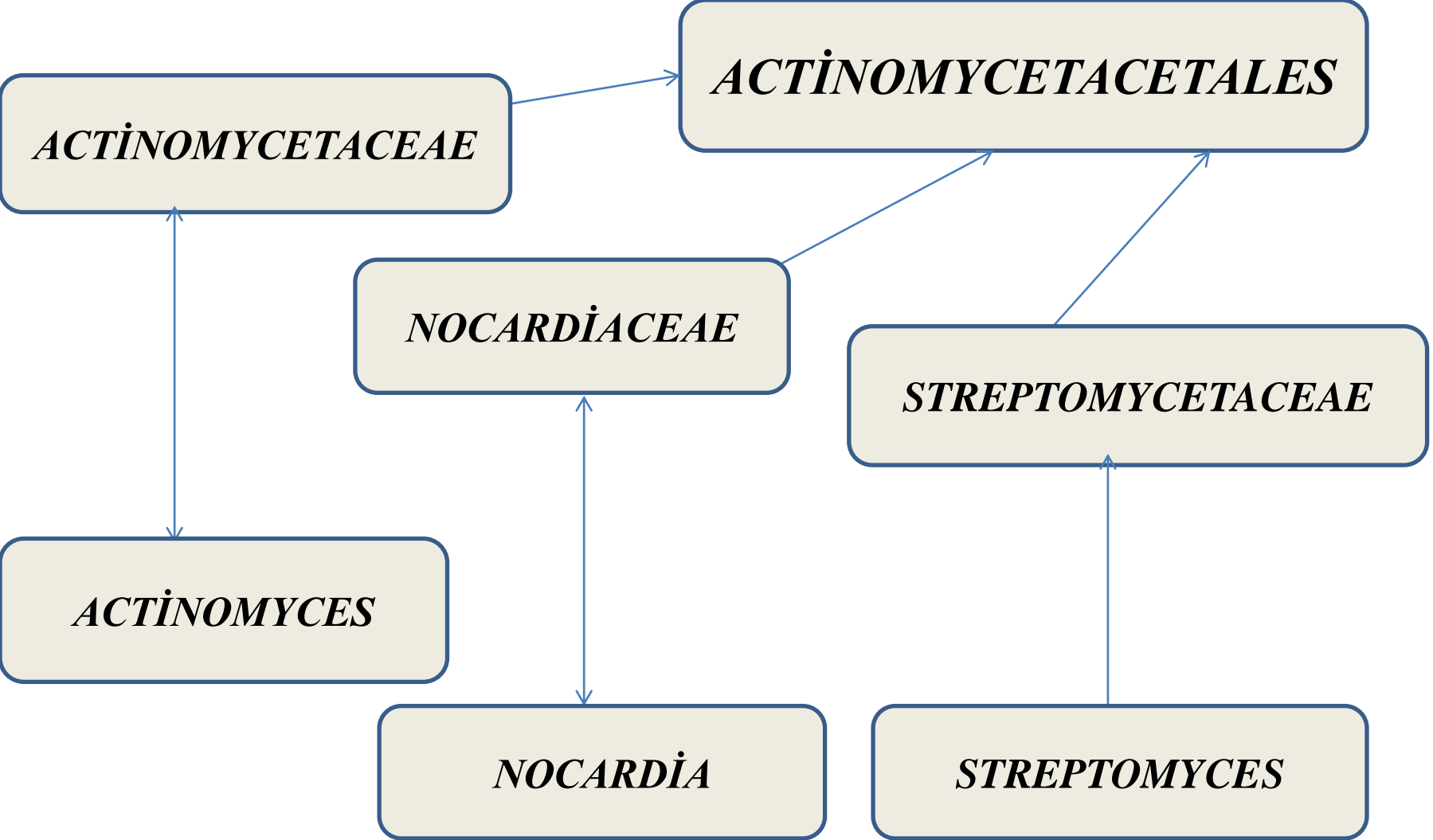
Вид– *U.urealyticum* (урогенитальный микоплазмоз)

Морфологию микоплазм можно изучить в нативных мазках с фазово-контрастным микроскопом, а также электронной микроскопией



АКТИНОМИЦЕТЫ

- *Актиномицеты* (*actis*-луч, *mykes*-гриб)- лучистые грибы, прокариоты
- По морфологическим свойствам похожи на грибы, но не имеют оформленного ядра как и бактерии
- Патогенными видами для человека из порядка actinomycetales являются *Actinomyces*, *Nocardia* и *Streptomyces*.



АКТИНОМИЦЕТЫ

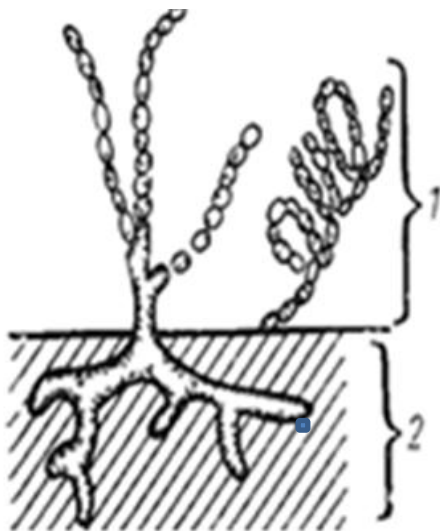
Представители рода *Actinomyces* составляют большую группу грамположительных бактерий .

- тонкие, прямые или слегка изогнутые длиной 1-3 мкм палочковидные бактерии.
- в процессе роста после деления не отделяются друг от друга, образуя мицелиоподобные филаменты, цепочки длиной до 10-50 мкм



АКТИНОМИЦЕТЫ

Клетки актиномицет встречаются в виде разветвленного мицелия, палочек или нитей. Некоторые виды актиномицет, как и грибы образуют колонии врастающие в толщу питательной среды - *субстратный мицелий*, и колонии растущие на поверхности среды - *воздушный мицелий*. Диаметр мицелия равен размеру бактерий (0,2-0,5 мкм), а длина может быть разной.



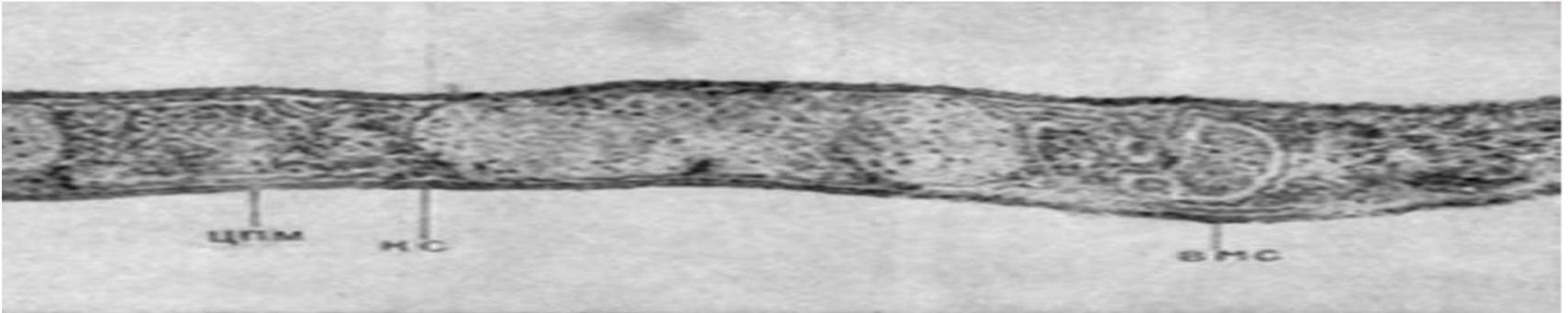
1-воздушные мицелии

2-субстратные мицелии

Актиномицеты

Актиномицеты размножаются
фрагментацией мицелия или
образованием спор на концах
воздушного мицелия

Ультраструктура актиномицет



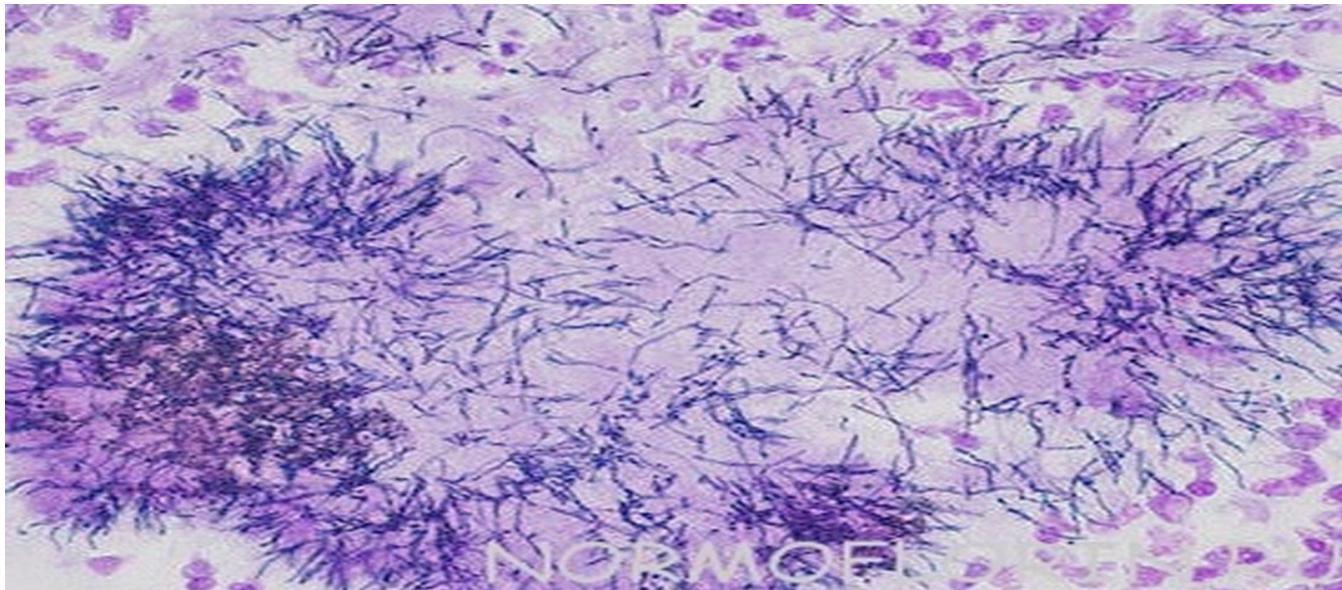
Ультраструктура и химический состав актиномицет сходны с бактериями. В отличие от бактерий имеют в составе пептидогликана арабинозу, галактозу, ксилозу и мадуросу.

Актиномицеты (роль в патологии человека)

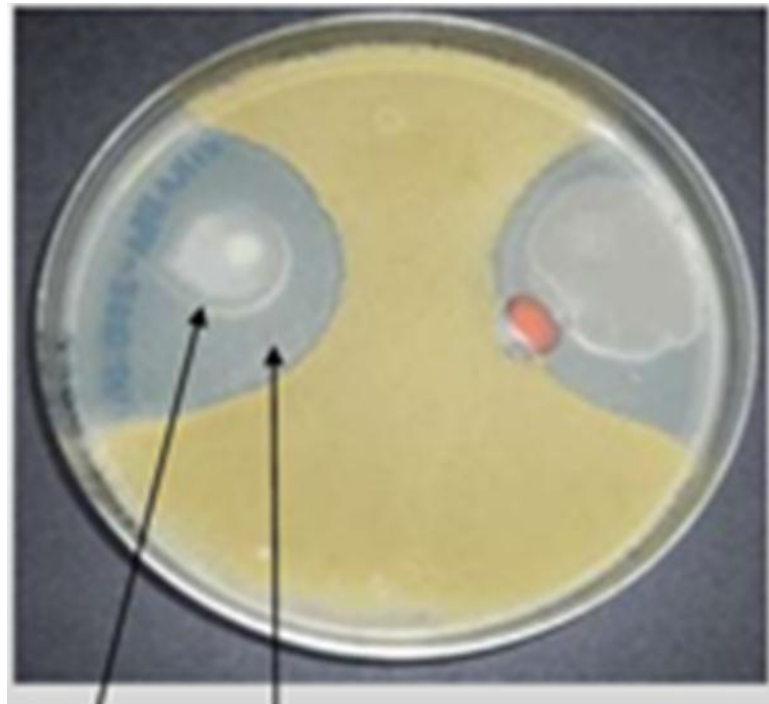
Представители рода *Actinomyces* широко распространены в окружающей среде. Встречаются в воде, воздухе, у животных и в организме человека. Вызывают эндогенную инфекцию в полости рта и желудочно-кишечном тракте.



Некоторые патогенные актиномицеты образуют в очагах частицы - друзы размером 0,3-2 мм. Эти частицы образуются в результате скопления измененных морфологически и пропитанных солями актиномицет. Мицелии актиномицет в друзах расходятся от центра на периферию в форме луча.



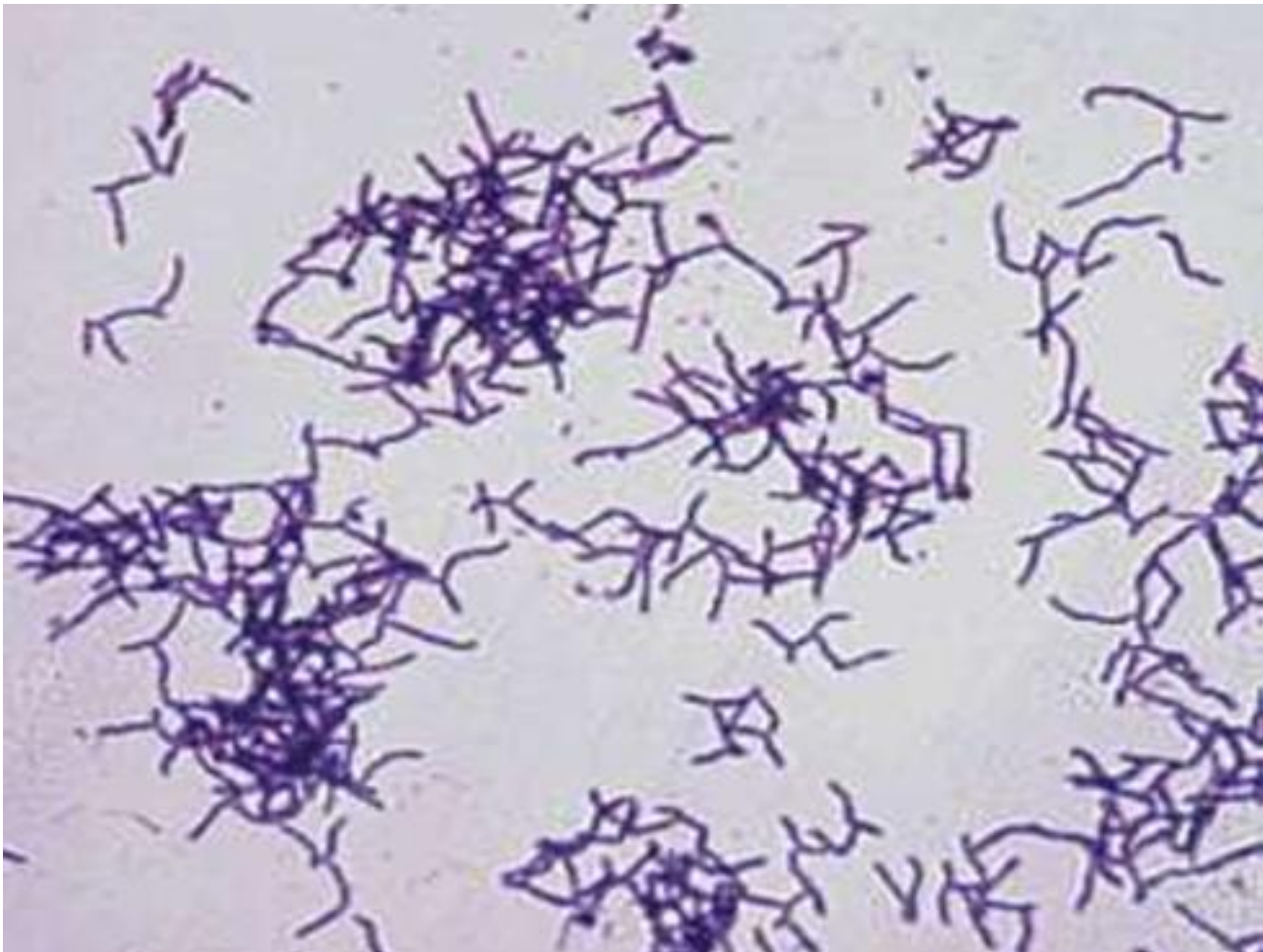
Некоторые представители актиномицет, особенно порядка *Streptomycetaceae* продуцируют антибиотики разных групп, которые получили применение в медицине.



Методы выявления актиномицетов

Учитывая особенности роста на твердых питательных средах, мазок готовится особым способом. Стерильной иглой берут из колонии материал, помещают на каплю воды на предметном стекле. Сверху накрывают покровным стеклом., Окрашивают по граму и микроскопируют под иммерсионным объективом.

A. bovis (мазок из чистой культуры окрашенный по Граму)



Друзы актиномицет в препарате из гноя

