***Занятие 5***

**Классификация, морфология и ультраструктура спирохет, риккетсий, хламидий, микоплазм и актиномицетов. Метод окраски по Гимзе**

**Спирохеты.**

**Спирохеты** (speria-извиток, chaite-волос) -спиралевидные, извитые, подвижные бактерии. 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 простанстве и обеспечивают движение спирохет.
* Под жгутиками находится цитоплазматическая мембрана.
* В цитоплазме так же, как и у всех бактерий имеются нуклеоид, рибосомы и включения.

**Морфология спирохет**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **РОД** | **КОЛИЧЕСТВО ЗАВИТКОВ И СВОЙСТВА** | **ДВИЖЕНИЕ** | **ОКРАСКА ПО РОМАНОВСКОМУ-ГИМЗЕ** |
| **BORRELİA** | **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** |
| **LEPTOSPİRA** | **20-40 ЗАВИТКОВ, КОНЕЧНЫЕ ИЗВИВАЯСЬ ОБРАЗУЮТ ПЕТЛИ** | **АКТИВНОЕ, ПОСТУПАТЕЛЬНОЕ** | **РОЗОВО-СИРЕНЕВЫЕ** |

**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 люминесцетным микроскопом методом **иммунофлюоресценции.**

**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

**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. 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.

**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 və **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.
* Риккетсии можно обнаружить в нативных мазках с помощью фазово-контрастной микроскопии*.*

**Хламидии- грамотрицательные бактерии.**

* Облигатные внутриклеточные паразиты, не культивируются на искусственных питательных средах.
* Входят в порядок Сhlamydiales
* 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

**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

**Методывыявленияхламидий**

* 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 вывляют окраской по Романовскому-Гимзе.
* 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

**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 Ureaplasmа*.

**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.

**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)**

**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 *Actinoomycetaceae, Nocardiaceae* и *Streptomycetaceae*. Представители рода *Actinomyces* cоставляют большую гетерогенную группу грамположительных бацилл.

* 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

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. 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 мадурозу.

**Актиномицеты (роль в патологии человека).** Представители рода *Аctinomytes* 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 обьективом.