Занятие 3

Классификация, морфология и ультраструктура спирохет, риккетсий, хламидий, микоплазм и актиномицетов. Окраска по методу Гимзы.

План занятия:

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

Извитые формы — спиралевидные бактерии, к которым относятся спираиллы, кампилобактерии, хеликобактерии и спирохеты.

Кампилобактерии и хеликобактерии имеют изгибы как у крыла летящей чайки.

Спирохеты — тонкие, длинные, извитые (спиралевидной формы) бактерии, отличающиеся от спираилл подвижностью, обусловленной сгибательными изменениями клеток. Они имеют тонкую наружную мембрану клеточной стенки, окружающую протоплазматический цилиндр с цитоплазматической мембраной и периплазматические фибриллы (жгутики), которые как бы закручиваются вокруг протоплазматического цилиндра спирохеты, придавая ей винтообразную форму (первичные завитки спирохет). Периплазматические фибриллы — аналоги обычных жгутиков бактерий и представляют собой сократительный белок флагеллин. Они прикреплены к концам клетки и направлены навстречу друг другу. Другой конец фибрилл свободен. Число и расположение фибрилл варьируют у разных видов. Фибриллы участвуют в передвижении спирохет, придавая клеткам вращательное, сгибательное и поступательное движение. При этом спирохеты образуют петли, завитки, изгибы, которые названы вторичными завитками. Обычно их окрашивают по Романовскому–Гимзе или серебрением. В живом виде спирохеты исследуют с помощью фазово-контрастной или темнопольной микроскопии.

Спирохеты представлены тремя родами, патогенными для человека:

Трепонемы (род *Treponema*) имеют вид тонких штопорообразно закрученных нитей с 8–12 равномерными мелкими завитками. Патогенными представителями являются Т.

pallidum — возбудитель сифилиса, *T. pertenuis* — возбудитель тропической болезни — фрамбезии..

Боррелии (род *Borrelia*) в отличие от трепонем имеют по 3–8 крупных завитков. К ним относятся возбудитель возвратного тифа (*B. recurrentis*) и возбудители болезни Лайма (*B. burgdorferi* и др.).

Лептоспиры (род *Leptospira*) имеют завитки неглубокие и частые — в виде закрученной веревки. Концы этих спирохет изогнуты наподобие крючков с утолщениями на концах. Образую вторичные завитки, они приобретают вид букв S или C. *L. interrogans* вызывает лептоспироз при попадании в организм с водой или пищей, приводя к развитию кровоизлияний и желтухи.

Ветвящиеся, нитевидные формы и палочки неправильной формы представлены актиномицетами и родственными с ними бактериями (нокардиями, микобактериями, коринебактериями и др.).

Актиномицеты — ветвящиеся, нитевидные или палочковидные грамположительные бактерии. Своё название (от греч. *actis* — луч, *mykes* — гриб) они получили в связи с образованием в поражённых тканях друз — гранул из плотно переплетённых нитей в виде лучей, отходящих от центра и заканчивающихся колбовидными утолщениями. Актиномицеты, как и грибы, образуют мицелий — нитевидные переплетающиеся клетки (гифы). Они формируют субстратный мицелий, образующийся в результате врастания клеток в питательную среду, и воздушный, растущий на поверхности среды.

Общую филогенетическую ветвь с актиномицетами образуют так называемые нокардиоподобные (нокардиоформные) актиномицеты. Их отдельные представители образуют ветвящиеся формы. К ним относят бактерии родов *Corynebacterium*, *Mycobacterium*, *Nocardia* и др. Миколовые кислоты и липиды клеточных стенок обуславливают кислотоустойчивость бактерий, в частности микобактерий туберкулеза и лепры (при окраске по Цилю–Нильсену они имеют красный цвет, а неокислотоустойчивые бактерии и элементы ткани, мокроты — синий цвет).

Патогенные актиномицеты вызывают актиномикоз, нокардии — нокардиоз, микобактерии — туберкулез и лепру, коринебактерии дифтерии — дифтерию. Сапрофитные формы актиномицетов и нокардиоподобных актиномицетов широко распространены в почве, многие из них являются продуцентами антибиотиков.

Риккетсии — мелкие грамотрицательные палочковидные бактерии, облигатные (обязательные) внутриклеточные паразиты. Размножаются бинарным делением в цитоплазме, а некоторые — в ядре инфицированных клеток. Обитают в членистоногих (вшах, блохах, клещах), которые являются их хозяевами или переносчиками. Форма и размер риккетсий могут меняться (клетки неправильной формы, нитевидные) в зависимости от условий роста. Структура риккетсий не отличается от грамотрицательных бактерий. Их окрашивают по Романовскому–Гимзе, по Маккиавелло–Здродовскому (риккетсии красного цвета, а инфицированные клетки — синего). У человека риккетсии вызывают эпидемический сыпной тиф (*Rickettsia prowazekii*), клещевой риккетсиоз (*R. sibirica*), пятнистую лихорадку Скалистых гор (*R. rickettsii*) и другие риккетсиозы.

Хламидии являются облигатными внутриклеточными кокковидными грамотрицательными (иногда грамвариабельными) бактериями. Хламидии размножаются только в живых клетках: их рассматривают как энергетических паразитов; они не синтезируют аденозинтрифосфат (АТФ) и гуанозинтрифосфат (ГТФ). Вне клеток хламидии имеют сферическую форму (0,3 мкм), метаболически неактивны и называются элементарными тельцами. В клеточной стенке

элементарных тельц имеется главный белок наружной мембраны и цистеиннасыщенный белок. В пептидогликане клеточной стенки хламидий отсутствует N-ацетилмурамовая кислота.

Элементарные тельца попадают в эпителиальную клетку путем эндоцитоза с формированием внутриклеточной вакуоли. Внутри клеток они увеличиваются и превращаются в делящиеся ретикулярные тельца, образуя скопления в вакуолях (включения). Из ретикулярных тельц образуются элементарные тельца, которые выходят из клеток путем экзоцитоза или лизиса клетки и вступают в новый цикл, инфицируя другие клетки. У человека хламидии вызывают поражения глаз (трахома, конъюнктивит), урогенитального тракта, легких и др.

Микоплазмы — мелкие бактерии, не имеющие клеточной стенки; окружены только цитоплазматической мембраной, содержащей стеролы. Из-за отсутствия клеточной стенки микоплазмы осмотически чувствительны. Имеют кокковидную, нитевидную или колбовидную форму, сходны с L-формами бактерий (выявляют при фазово-контрастной микроскопии). На плотной питательной среде микоплазмы образуют мелкие колонии, напоминающие яичницу-глазунью: центральная непрозрачная часть, погруженная в среду, и просвечивающая периферия в виде круга. Они вызывают у человека атипичную пневмонию (*Mycoplasma pneumoniae*) и поражают мочеполовой тракт (*M. hominis* и др.). Широко распространены и непатогенные представители.

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.

По Романовскому-Гимзе трепонемы окрашиваются в бледно-розовый цвет, лептоспиры в розовый, борелии в фиолетовый

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