



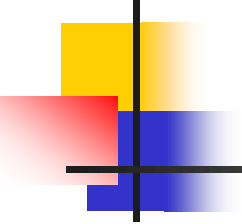
АЗЕРБАЙДЖАНСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА МЕДИЦИНСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ И ИММУНОЛОГИИ

ЛЕКЦИЯ 2

**Классификация, морфология и ультраструктура бактерий.
Классификация, морфология и ультраструктура спирохет,
риккетсий, хламидий, микоплазм и актиномицетов.**

ФАКУЛЬТЕТ: *Лечебно-профилактический*

Предмет: *Медицинская микробиология - 2*



План лекции

1. Морфология и ультраструктура прокариот
 - Морфология и основные формы бактерий. Ультраструктура бактериальной клетки. Строение клеточной стенки грамположительных и грамотрицательных бактерий. Клеточная стенка кислотоустойчивых бактерий. Бактерии, не имеющие клеточную стенку. Постоянные (нуклеоид, цитоплазма, рибосомы, внутриклеточные включения, клеточная оболочка – цитоплазматическая мембрана, клеточная стенка, слизистый слой) и непостоянные (капсула, жгутик, пили и споры) компоненты клеточной стенки.
 - Классификация, морфология и ультраструктура спирохет, их тинкториальные свойства и виды, патогенные для человека.
 - Классификация, морфология и ультраструктура риккетсий и виды, патогенные для человека.
 - Классификация, морфология и ультраструктура хламидий, их тинкториальные свойства и виды, патогенные для человека.
 - Классификация, морфология и ультраструктура микоплазм, и виды, патогенные для человека.
 - Классификация, морфология и ультраструктура актиномицетов и виды, патогенные для человека.

М и р м и к р о б о в

Неклеточные формы	Клеточные формы			
	Домен «Bacteria»	Домен «Archaea»	Домен «Eukarya»	
	Прокариоты		Эукариоты	
	• Бактерии с тонкой клеточной стенкой, грамотрицательные (протеобактерии и др.)	Архебактерии	Простейшие (царство Animalia , подцарство Protozoa): тип Sarcomastigophora тип Apicomplexa тип Ciliophora тип Microspora	Грибы (царство Fungi) тип Zygomycota тип Ascomycota тип Basidiomycota тип Deuteromycota, или митоспоровые грибы
	• Бактерии с толстой клеточной стенкой, грамположительные			
	○ Бактерии без клеточной стенки – микоплазмы			
Прионы				
Вироиды				
Вирусы				

ПРОКАРИОТЫ И ЭУКАРИОТЫ

- **Прокариоты** (*от лат. pro - вперёд, вместо и греч. karyon - ядро*) – организмы, в клетках которых нет оформленного клеточного ядра.
К прокариотам относятся бактерии и сине-зелёные водоросли (Цианобактерии).
- **Эукариоты** (*от лат. eu – полностью и karyon – ядро*) – организмы, клетки которых обладают оформленным клеточным ядром, ограниченным от цитоплазмы ядерной оболочкой. Генетический материал заключён в хромосомах. Для эукариот характерен половой процесс.
К эукариотам относятся грибы, растения и животных.

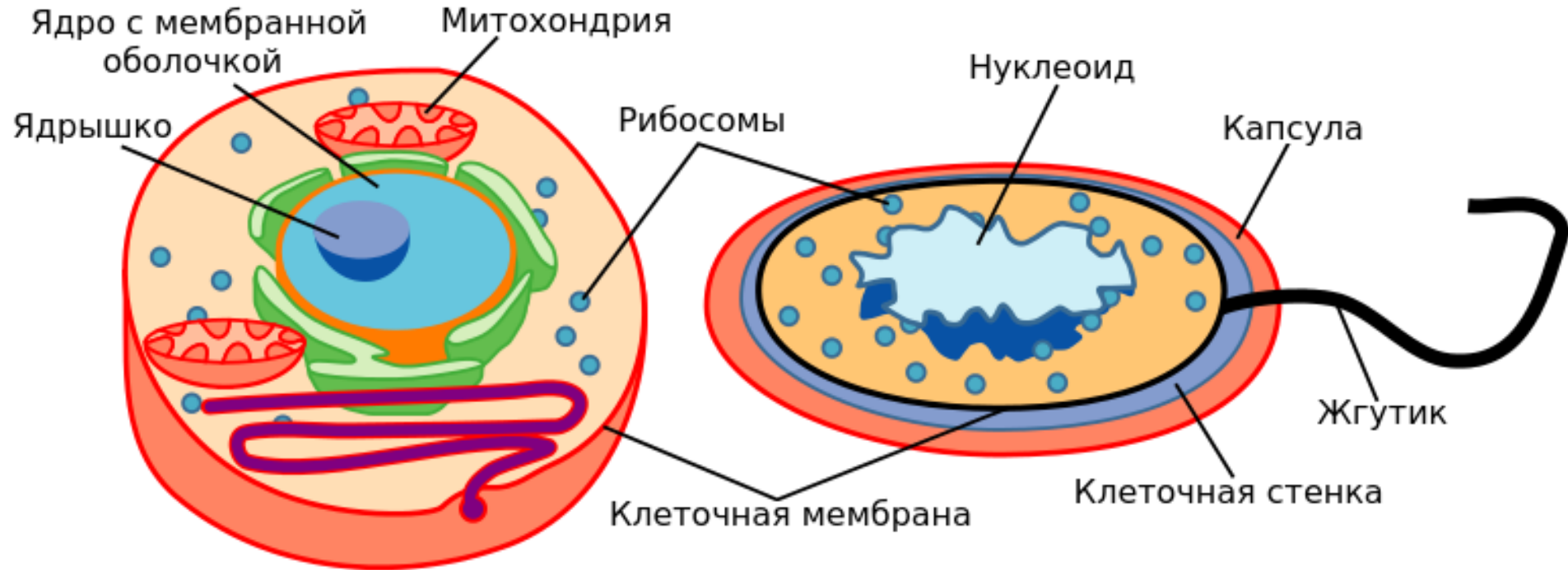
Отличия прокариот и экариот

Признак	Прокариоты	Эукариоты
Оформленное ядро	-	+
Размеры клеток	0,2 - 2,0 мкм	> 2,0 мкм
Наличие митохондрии, хлоропластов, аппарата Гольджи, лизосом, ЭПР	-	+
Локализация рибосом	Рассеяны в цитоплазме	Прикреплены к ЭПР
КС рибосом	70S	80S
Структура жгутика	Фибрилла	9+2
Митоз	-	+
Число хромосом	1	обычно > 1
Хромосома	Кольцевая 	Линейная

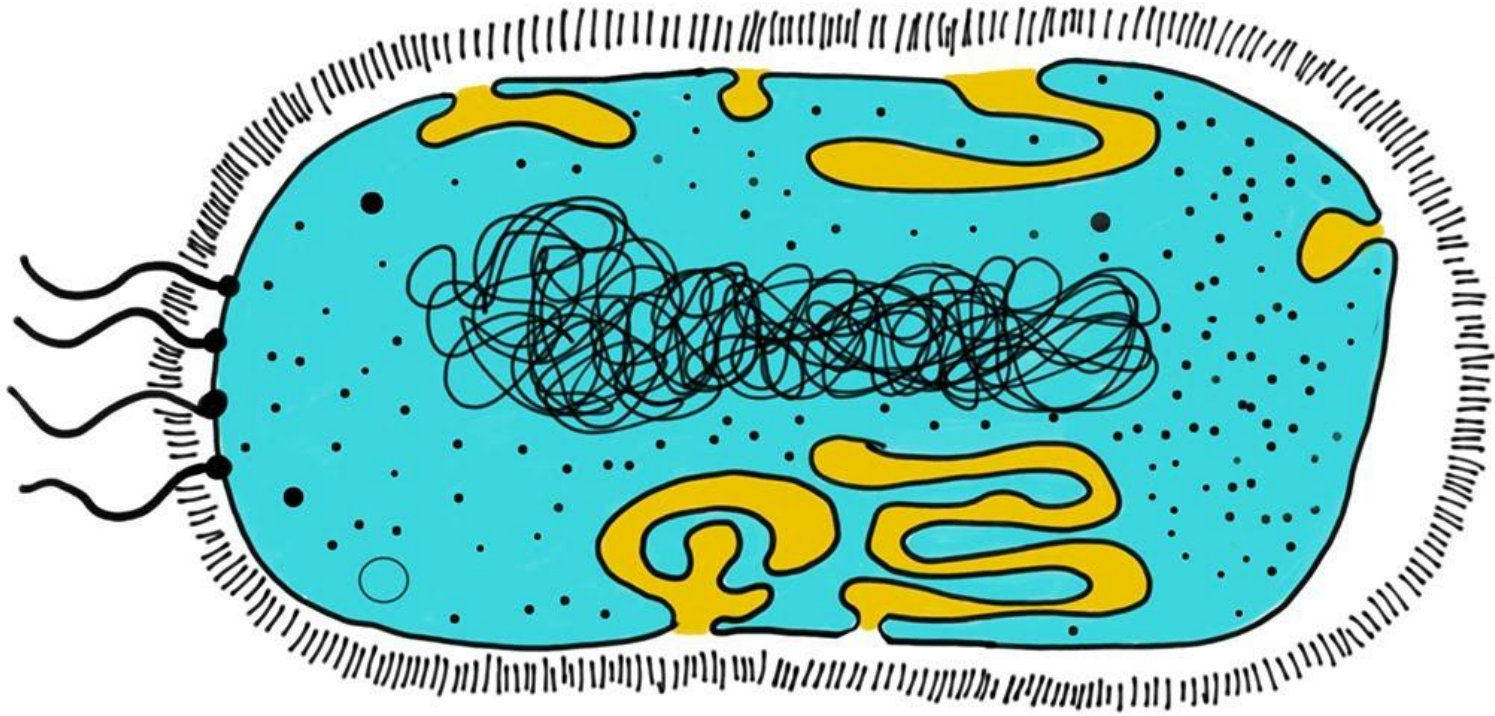
Строение эукариотов и прокариотов

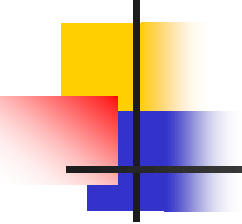
Эукариот

Прокариот



Прокариоты. Бактерии



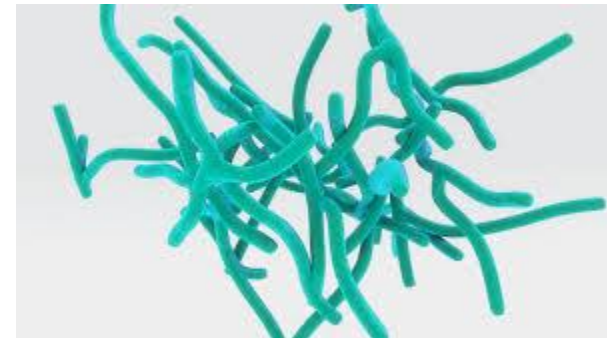
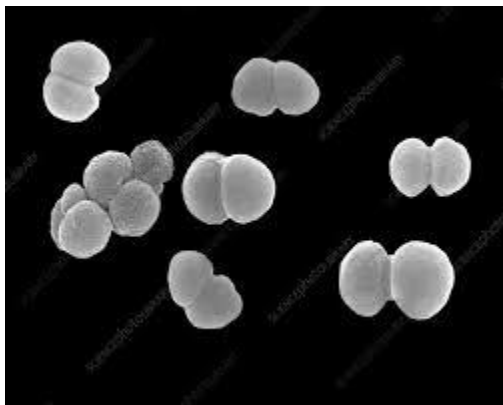
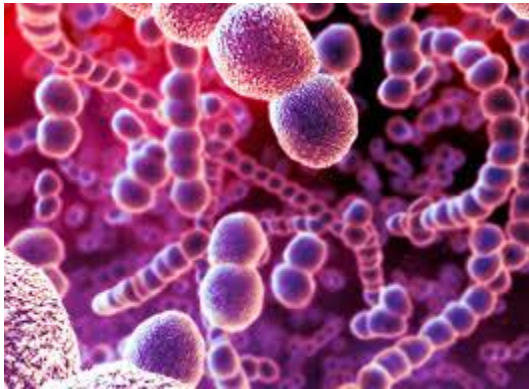
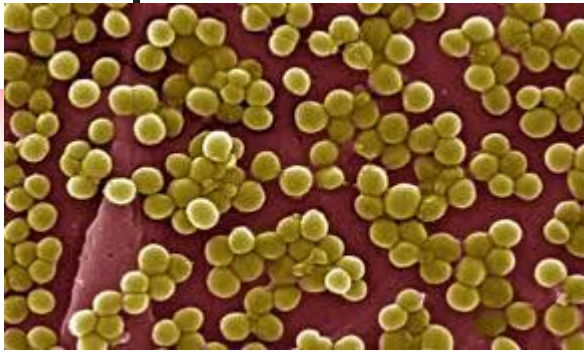


Бактерии

- Микроскопические, преимущественно одноклеточные организмы, относящиеся к царству прокариотов.
- Имеют примитивное ядро без оболочки, ядрышка и гистонов, не имеют высокоорганизованных органелл (митохондрии, аппарат Гольджи, лизосомы, эндоплазматический ретикулум).
- Длина бактерий варьирует от 0,1-0,2 мкм* (микоплазмы) до 10-15 мкм (клостридии), иногда больше, толщина от 0,1 до 2,5 мкм.

* - 1 мкм = 1/1000 мм или 10^{-6} м

Бактерии



Основные морфологические группы бактерий и их размеры

Морфология бактерий – форма, размер, взаимное расположение бактериальных клеток.

Всем бактериям присущи определенная форма и размеры, которые выражаются в мкм.

Морфология микроорганизмов



кокки



палочки



извитые формы

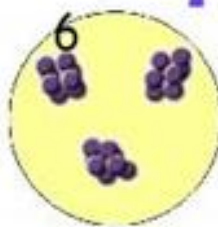
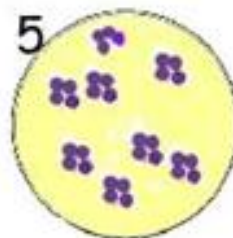
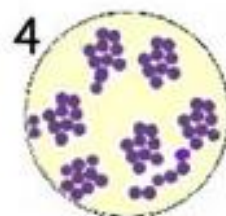
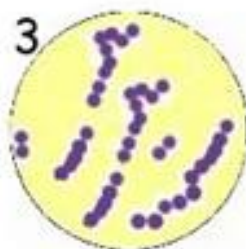
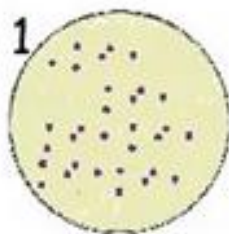


нитевидные формы

- Кокковидные (0,5-1.5 мкм)
- Палочковидные (0,3-10 мкм)
- Извитые (до 20 мкм)
- Нитевидные (до 10-50 мкм)

Шаровидные бактерии (кокки) размером 0,5 - 1,0 мкм;

- Большинство **кокков** [от греч. kokkos, ягода, зерно] имеют шаровидную или овальную форму, клетки некоторых видов могут быть эллипсоидными, бобовидными или ланцетовидными.
- По характеру расположения клеток в мазках выделяют:
 - 1-**монококки** (делятся в одной плоскости и располагаются беспорядочно);
 - 2-**диплококки** (делятся в одной плоскости, располагаются парами; имеют бобовидную или ланцетовидную формы);
 - 3-**стрептококки** (делятся в одной плоскости; связь между клетками обычно сохраняется, что придаёт им форму бус или чётков, располагающихся цепочками);
 - 4-**стафилококки** (делятся в нескольких плоскостях, образуя бесформенные скопления, напоминающие виноградные гроздья);
 - 5-**тетракокки** (делятся в двух перпендикулярных плоскостях, располагаются по четыре в форме квадратов);
 - 6-**сарцины** (делятся в трёх перпендикулярных плоскостях, располагаются этажами в форме «тюков» или «пакетов» по 8, 16, 32 и более клеток).

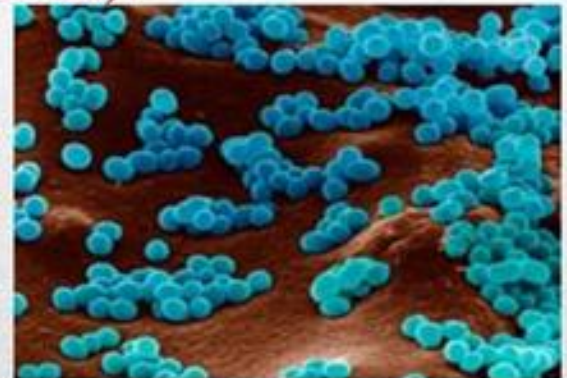
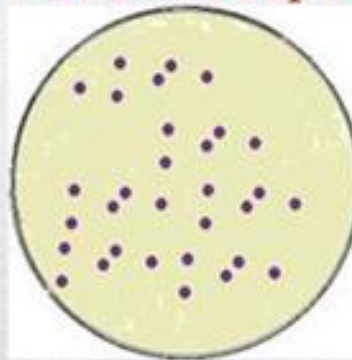


3. Морфология бактерий.

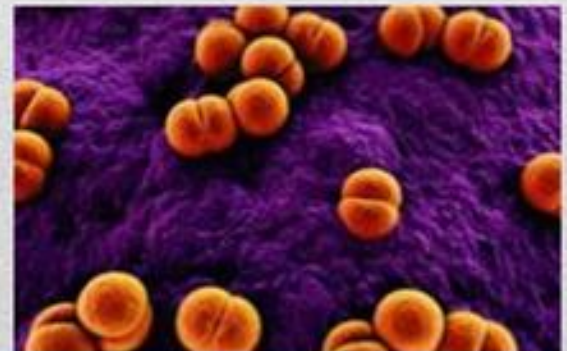
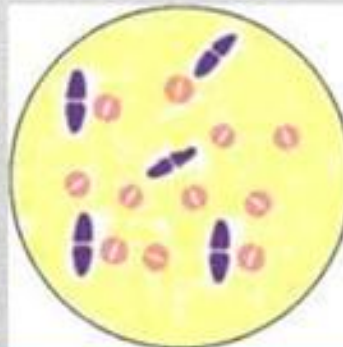
По форме выделяют следующие основные группы микроорганизмов:

1. Кокковидные бактерии (кокки):

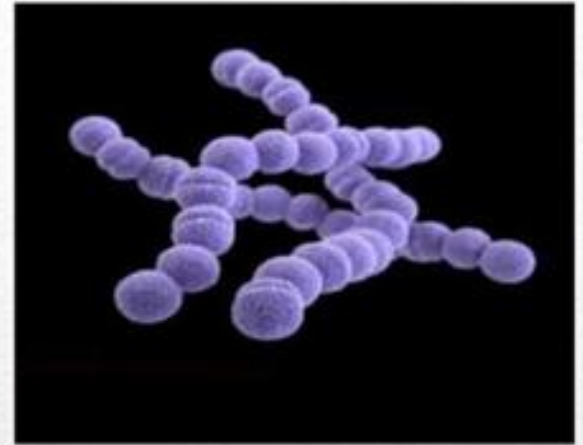
а). микрококки



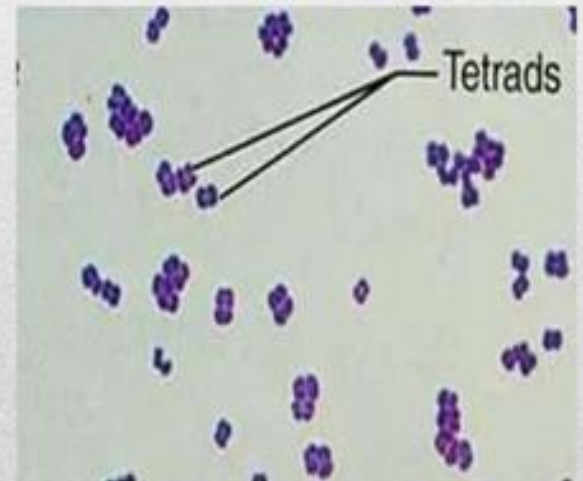
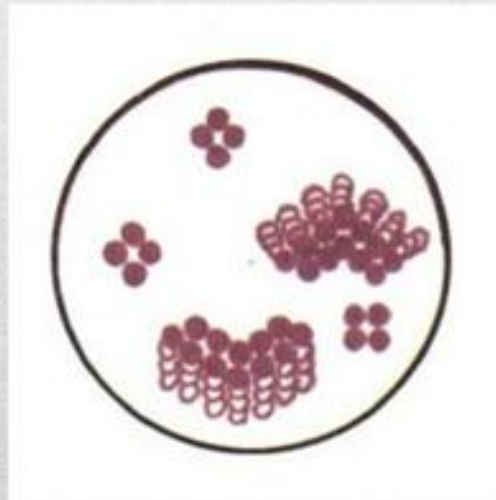
б). Диплококки



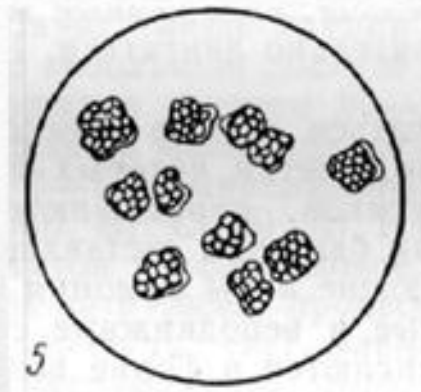
в). стрептококки



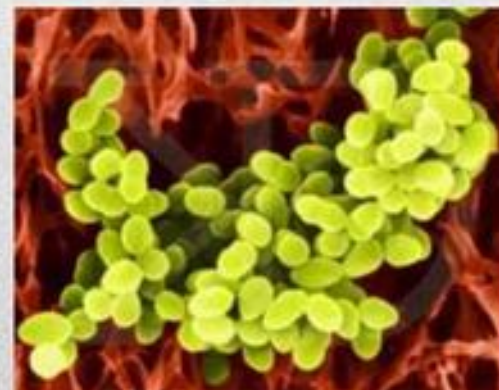
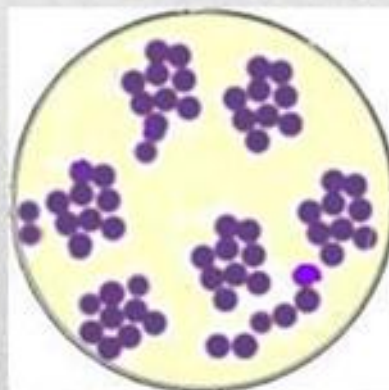
г). тетракокки



д). сарцины



е).стафилококки



Палочковидные бактерии

- По наличию споры и ее размерам:
бактерии, бациллы, клостридии
- По длине:
короткие, средние, длинные
- По ширине:
тонкие, толстые
- По форме концов клетки:
закругленные, заостренные, обрезанные, утолщенные
- По расположению:
одиночно, попарно, под углом, цепочкой



Спорообразующие бактерии



ДЛИНА ПАЛОЧЕК

☹ Длинные (> 3 мкм):



Bac. megaterium



Clostridium botulinum
(палочка ботулизма)



Cl. tetani
(столбнячная палочка)

☹ Короткие – 1 мкм



Escherichia coli (БГКП)
(кишечная палочка)

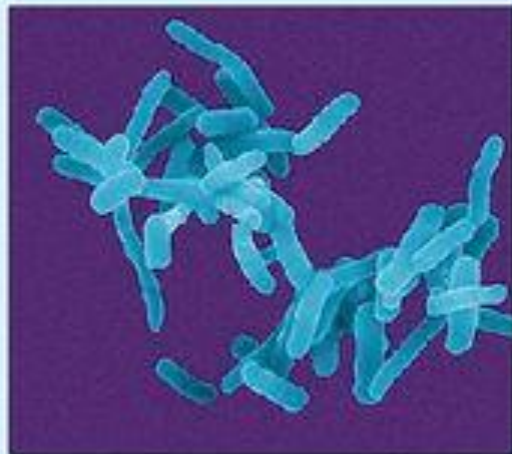
☹ Очень короткие (< 1 мкм)



Yersenia pestis
(палочка чумы)

ФОРМА КОНЦОВ ПАЛОЧЕК

☹️Закругленные



Shigella dysenteriae
(шигелла)

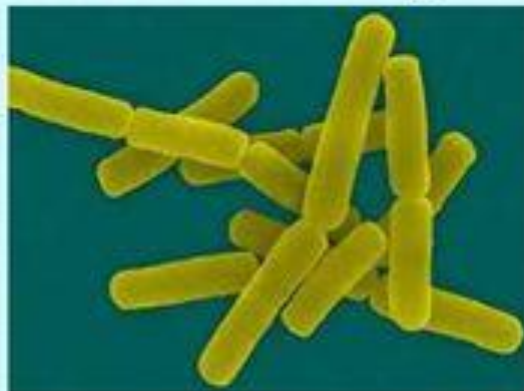


Salmonella typhi
(сальмонелла)



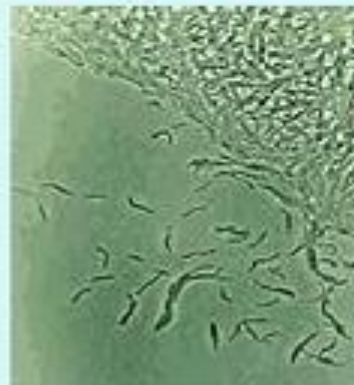
Yersenia pestis
(палочка чумы)

☹️Резанные края



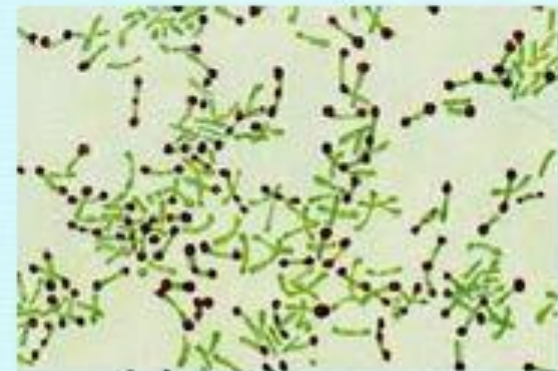
Bac. anthracis
(сибиреязвенная палочка)

☹️Заостренные



Cytophaga
(цитофага)

☹️Утолщенные

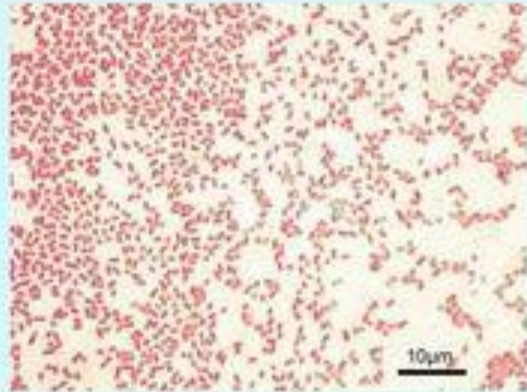


Corinebacterium diphtheriae
(дифтерийная палочка)

ХАРАКТЕР РАСПОЛОЖЕНИЯ ПАЛОЧЕК

☹️ Попарно

(диплобактерии или диплобациллы)



Pseudomonas aeruginosa
(синегнойная палочка)



☹️ Цепочками

(стрептобактерии или стрептобациллы)



Bacillus anthracis
(сибиреязвенная палочка)



☹️ Под углом друг к другу



Bifidobacterium longum
(бифидобактерия)

Извитые бактерии

Обладают спиральной симметрией. К ним относятся:

- **вибрионы** – имеют извитую форму, образуя 0.25-0.5 завитка спирали и напоминают запятую (возбудитель холеры);
- **спириллы** – спиральные извитые палочки с 3-5 витками (возбудитель кампилобактериоза);
- **спирохеты** – бактерии в виде изогнутого длинного витка, в виде штопора со множеством завитков, обладают свойствами и простейших и бактерий (аскостиль – осевая нить – спирохеты. Размеры спирохет от 0,5 до 500 мкм).



Нитевидные формы

Постоянные и временные

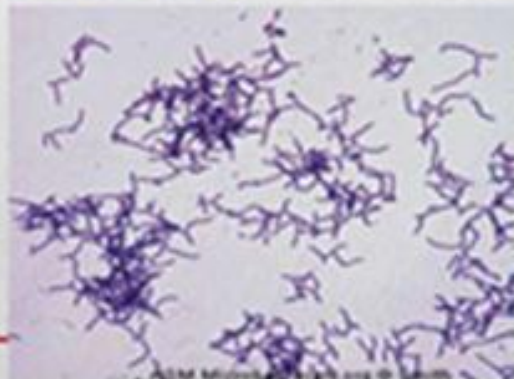
- Постоянные- микроорганизмы, образующие ветвистые нити (актиномицеты). Могут быть соединены посредством футляра или слизи.
- Временные- образуются из палочковидных форм при нарушении условий их роста. Атипичные формы бактерий

4. Ветвящиеся бактерии:

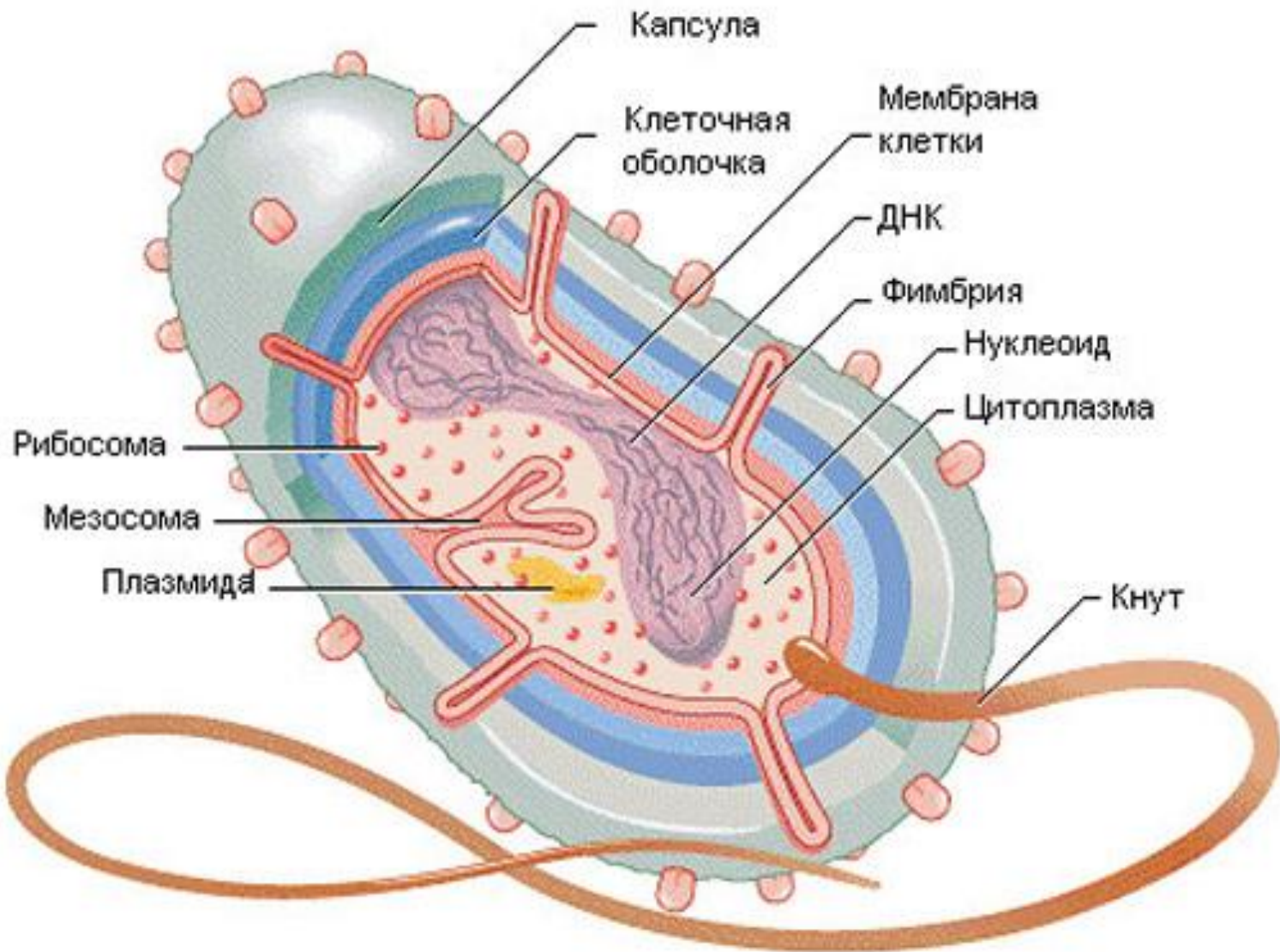
бифидобактерии



актиномицеты

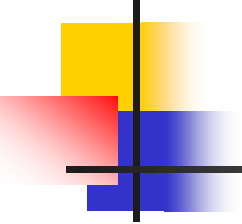


Строение бактериальной клетки



Постоянные и непостоянные компоненты клеток прокариот

постоянные	непостоянные
Нуклеоид Клеточная стенка Цитоплазма Рибосомы 70S Мезосомы ЦПМ	Жгутики Пили Плазмиды Капсула Споры Включения



Нуклеоид бактериальной клетки

- Нуклеоид у бактерий – это прототип ядра.
- Не имеет ядерной оболочки, ядрышка и гистонов.
- Представлен одной хромосомой.
- Состоит из двунитевой ДНК, замкнутой в кольцо и скрученной в клубок.
- Кроме нуклеоида носителем наследственной информации являются плазмиды –циркулярные молекулы ДНК в цитоплазме.

Электроннограмма бактерии

Нуклеоид выглядит как аморфная структура

meduniver.com



Нуклеоид



Место
деления



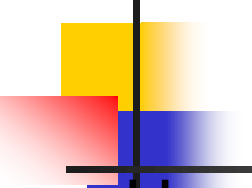
Оболочка
клетки



Цитоплазма

1 мкм

Цитоплазма и органеллы бактериальной клетки

- 
- Цитоплазма – это коллоид, состоящий из растворимых белков, РНК, включений и рибосом.
 - Рибосомы бактерий размером 20 нм с константой седиментации 70 S (субъединицы 50 S и 30 S).
 - Рибосомные РНК (16 S и 23 S) наиболее консервативные элементы бактерий. На их определении (особенно 16 S) основана геносистематика бактерий.
 - Включения (гранулы гликогена, полисахаридов, липидов, полифосфатов) накапливаются бактериальной клеткой как запас питательных и энергетических веществ.

Функции цитоплазмы

- Перемещает вместе с собой различные вещества, включения и органоиды.
- В ней протекают все процессы обмена веществ
- Важнейшая роль цитоплазмы заключается в объединении всех клеточных структур (компонентов) и обеспечении их химического взаимодействия.

Цитоплазма

Внутренняя среда клетки, **цитоплазма** состоит из:

- гуалоплазмы — основного вещества цитоплазмы;
- органондов — постоянных компонентов цитоплазмы;
- включений — временных компонентов цитоплазмы.

Химический состав цитоплазмы:

- вода (60-90%);
- белки (10-20%);
- жиры и жироподобные вещества (2-3%);
- другие различные органические и неорганические соединения (до 1,5%).



Гиалоплазма



Гиалоплазма(цитозоль, матрикс) - это жидкая часть цитоплазмы без органоидов. Цитозоль представляет собой смесь веществ, растворенных в воде. Концентрации ионов натрия и калия в цитозоле отличаются от таковых во внеклеточном пространстве, эти различия в концентрациях ионов играют важную роль в осморегуляции и передаче сигнала.

Органеллы бактериальной клетки: обязательные

- **Рибосомы**

Аналогичны рибосомам эукариотической клетки, но меньшей молекулярной массы

- **Мезосомы** = впячивания ЦПМ:

- центр энергетического метаболизма
- участие в клеточном делении

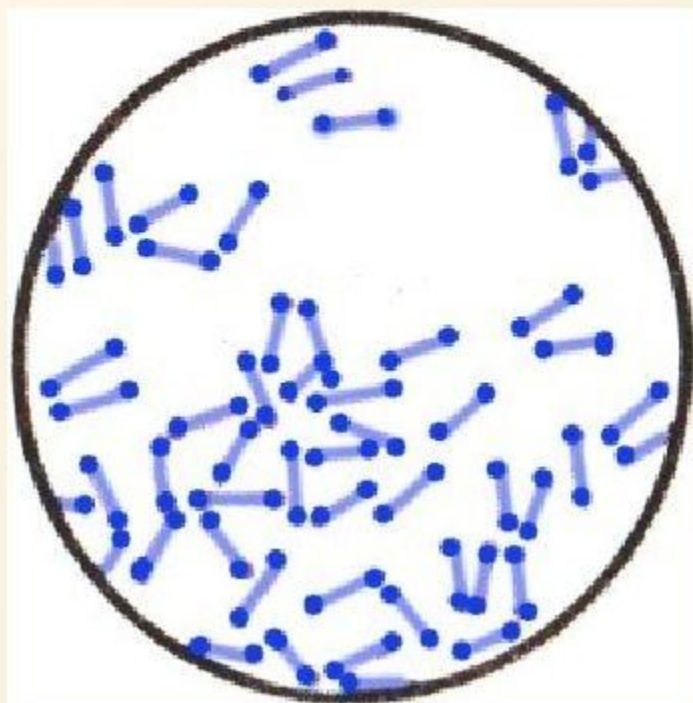
Органеллы бактериальной клетки: необязательные (факультативные)

- **Плазмиды** = ДНК аналогичного нуклеоиду строения, но:
 - меньшего молекулярного веса
 - *в одной клетке может быть несколько копий одной плазмиды*
- **Цитоплазматические включения**
Как правило, запасы питательных веществ.
Н-р, зерна волютина – полифосфаты,
кристаллы серы

Волютин

- **ВОЛЮТИН**, цитоплазматические включения в виде гранул полифосфата у микроорганизмов. Впервые описаны у бактерии *Spirillum volutans* (отсюда название).
- Волютин — внутренний резерв фосфатов, за счёт которого клетка может при недостатке фосфора в среде осуществить ещё несколько делений.
- Многие бактерии накапливают волютин при недостатке некоторых компонентов питания. Дрожжи, коринебактерии, микобактерии обычно образуют волютин на последних стадиях роста.

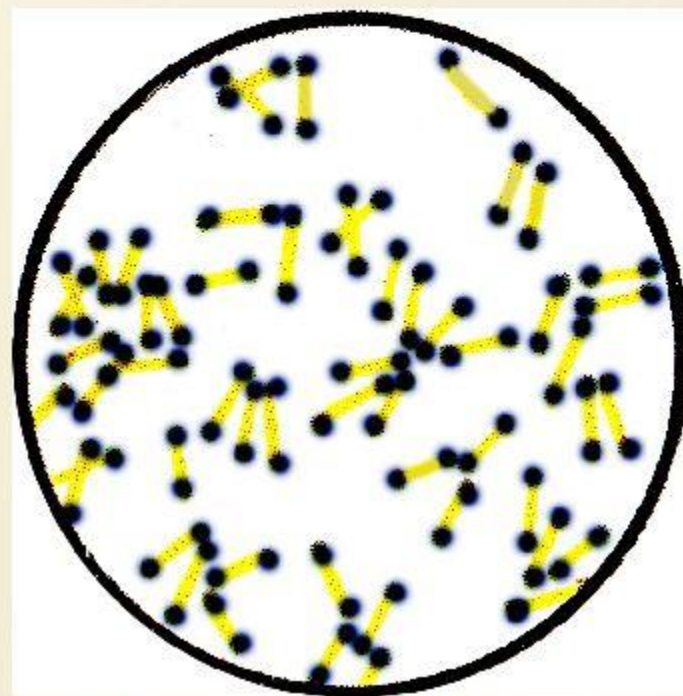
ЗЕРНА ВОЛЮТИНА КОРИНЕБАКТЕРИЙ



Окраска по Леффлеру

Щелочная метиленовая
синька Леффлера – 3 – 5 мин

Промывание,
высушивание,
микроскопия



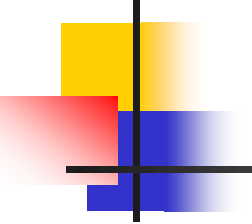
Окраска по Нейссеру

Уксусно-кислая синька Нейссера 1 мин.
Промывание водой

Раствор Люголя – ½ мин

Не промывая водой - везувин 1 мин

Промывание,
высушивание,
микроскопия

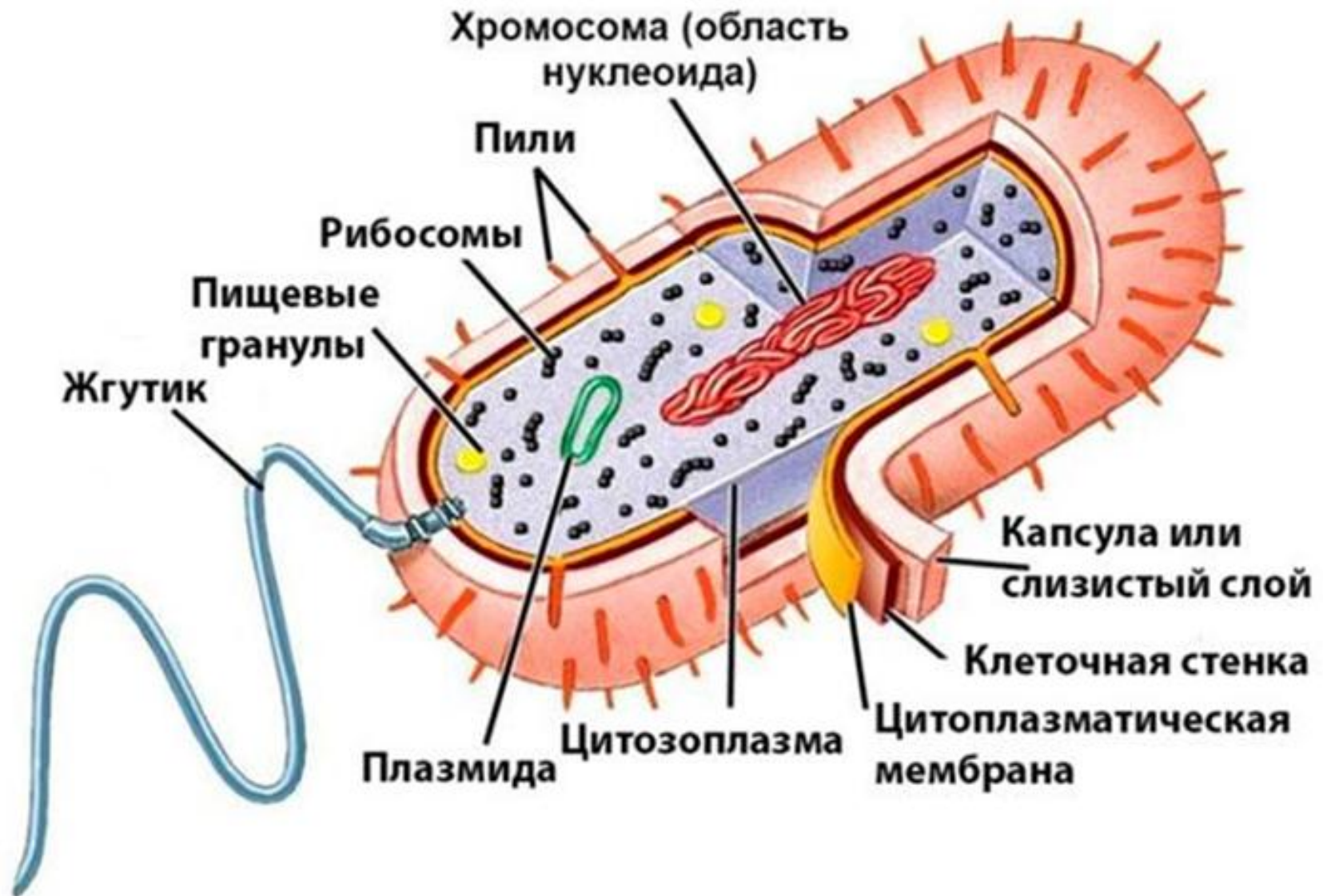


Оболочка бактериальной клетки

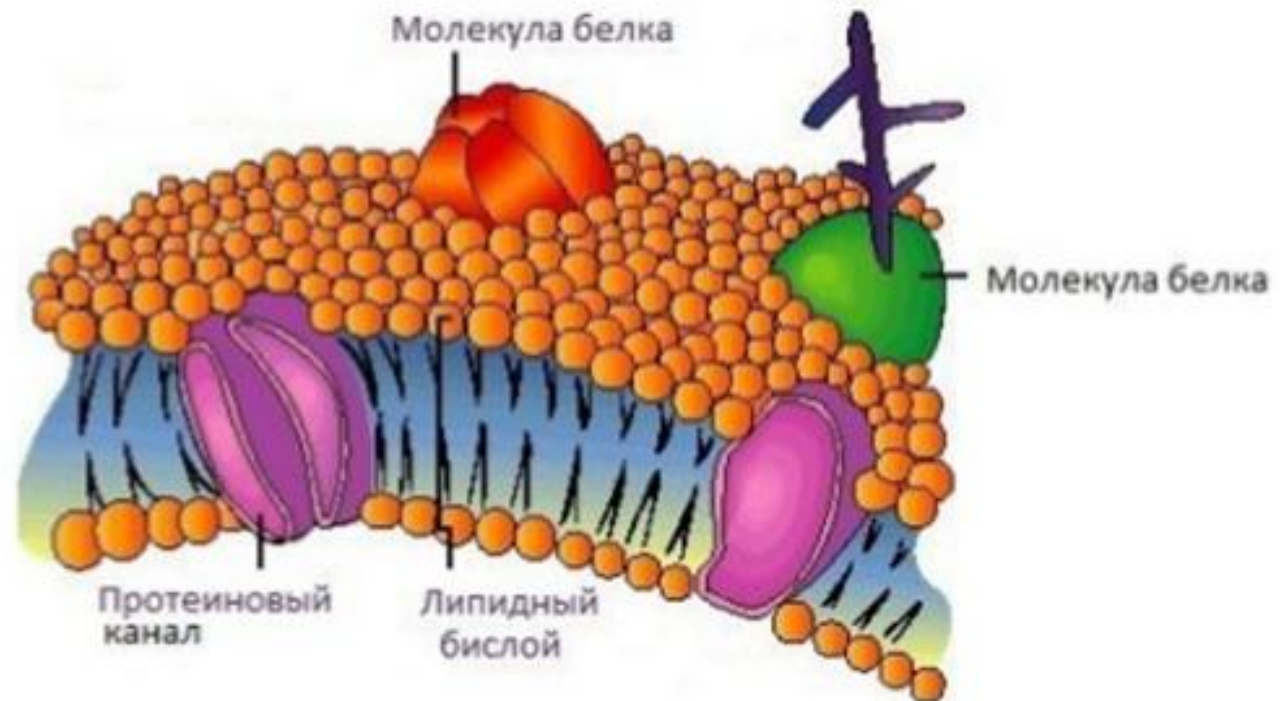
Оболочка бактериальной клетки состоит из:

- Цитоплазматической мембраны.
- Клеточной стенки (у грамотрицательных бактерий - с наружной мембраной).
- У некоторых бактерий снаружи имеется дополнительная структура – капсульный слой.

Строение бактериальной клетки



**Цитоплазматическая мембрана (ЦПМ) –
это липидный бислой, в который
погружены молекулы белков**



Цитоплазматическая мембрана

При электронной микроскопии ультратонких срезов представляет собой трехслойную мембрану (2 темных слоя толщиной по 2,5 нм каждый разделены светлым - промежуточным). Состоит из двойного слоя липидов, главным образом фосфолипидов, с внедренными поверхностными, а также интегральными белками, как бы пронизывающими насквозь структуру мембраны.

ЦПМ является динамической структурой с подвижными компонентами, поэтому ее представляют как мобильную текучую структуру.



Рис. 2.6. Электронограмма ультратонкого среза клетки грамотрицательной бактерии *Brucella melitensis* (по А. А. Авакян, Л. Н. Кац, И. Б. Павловой).

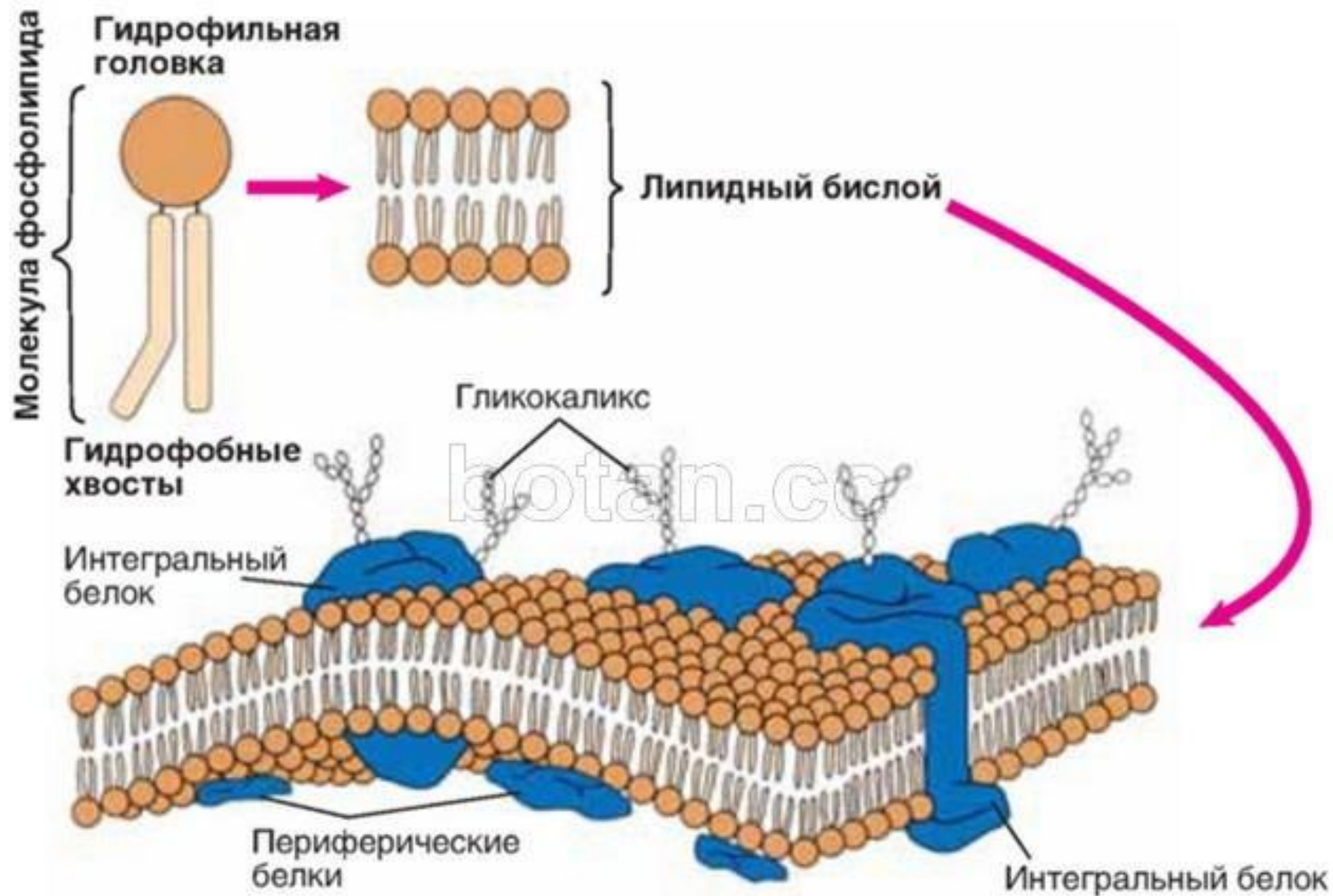


Рис. 30. Схема строения цитоплазматической мембраны

Основные функции ЦПМ бактерий

- **Барьерная:** ЦПМ является естественным, барьером проницаемости, а так же осмотическим барьером клетки
- **Транспортная:** ЦПМ регулирует потоки питательных веществ и продуктов метаболизма
- **Регуляторная:** ЦПМ регулирует процессы репликации ДНК, разделения хромосом, нарастания клеточной поверхности и деления клетки
- **Энергетическая:** общая биоэнергетика бактериальной клетки основана на создании различных градиентов на ЦПМ

Клеточная стенка

Прочная, упругая структура, придающая бактерии определенную форму и вместе с подлежащей цитоплазматической мембраной «сдерживающая» высокое осмотическое давление в бактериальной клетке.

Клеточная стенка – упругое ригидное образование толщиной 150–200 ангстрем.

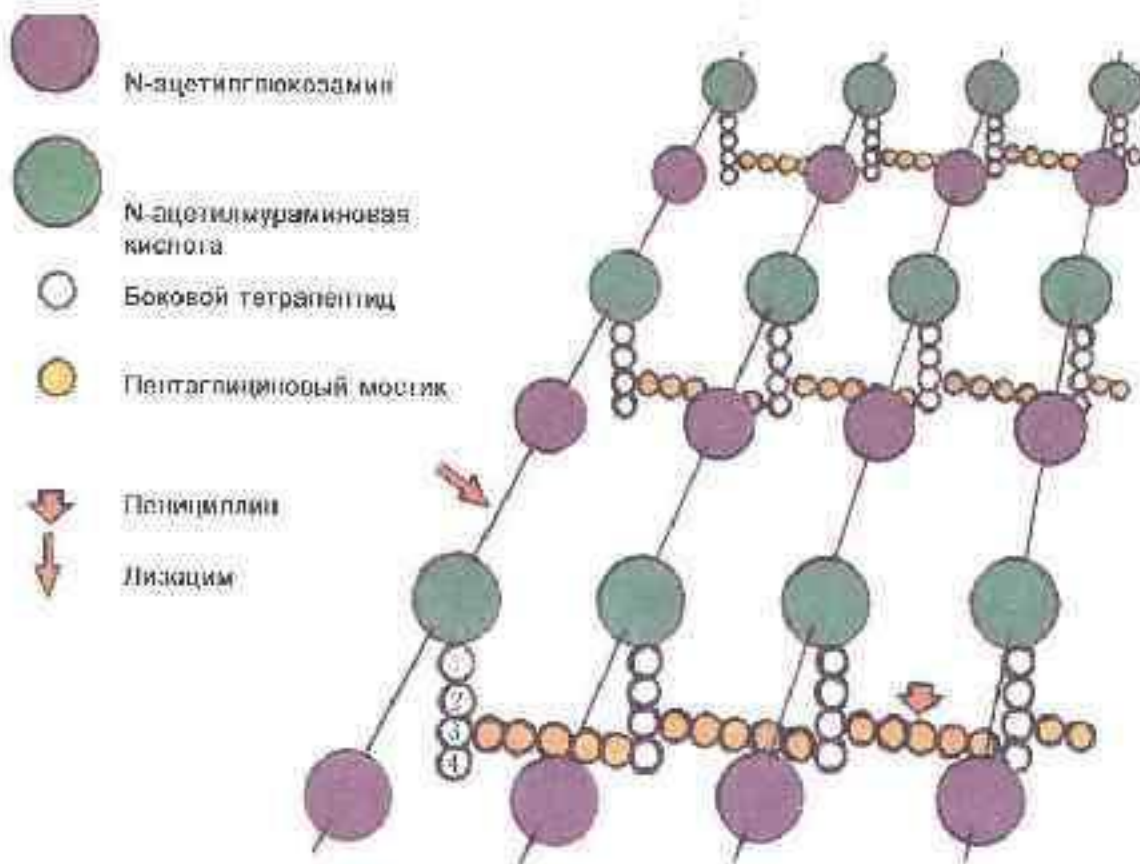
Выполняет следующие функции:

- 1) защитную, осуществление фагоцитоза;
- 2) регуляцию осмотического давления;
- 3) рецепторную;
- 4) принимает участие в процессах питания деления клетки;
- 5) антигенную (определяется продукцией эндотоксина – основного соматического антигена бактерий);
- 6) стабилизирует форму и размер бактерий;
- 7) обеспечивает систему коммуникаций с внешней средой;
- 8) косвенно участвует в регуляции роста и деления клетки.

Клеточная стенка

- Находится снаружи от цитоплазматической мембраны, присуща большинству бактерий (кроме микоплазм и других молликутов), теряется при образовании L-форм.
- Обеспечивает механическую защиту и постоянство формы бактерий. Основное вещество – **пептидогликан**.
- У грам+ бактерий клеточная стенка толстая, несложно устроенная, в составе преобладают пептидогликан и тейхоевые кислоты.
- У грам- бактерий клеточная стенка тоньше, трехслойная за счет наличия наружной мембраны, содержит **липополисахариды** (ЛПС), фосфолипиды, диаминопимелиновую кислоту.

Строение пептидогликана



Пептидогликан -

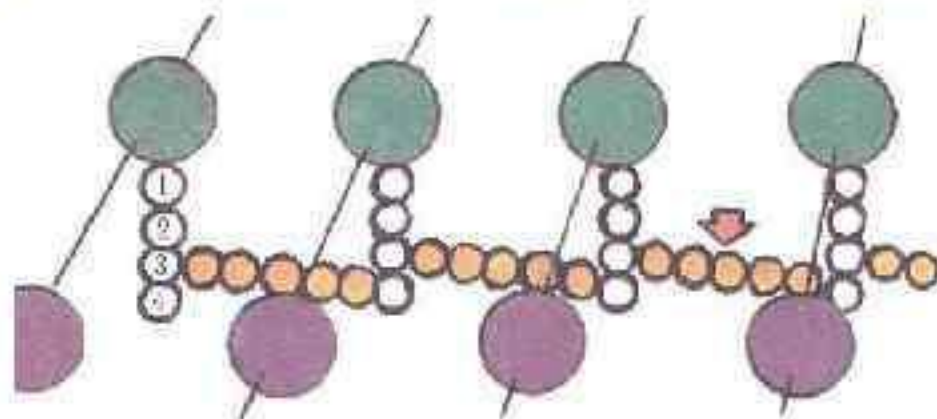
состоит из параллельно расположенных цепочек полисахарида гликана.

Гликан складывается из цепочек, в которой чередуются остатки N-ацетилглюкозамина и N-ацетилмурамовой кислоты, соединенных бета -1,4 – гликозидными связями.

Цепочки гликана между собой скрепляются пептидными связями.

Строение пептидогликана

- Боковые цепочки представлены идентичным набором тетрапептидов



- 1 - L-Аланин
- 2 - D-глутаминовая кислота
- 3 - мезо-диаминопимелиновая кислота (мезо-ДАП)
- 4 - D-Аланин

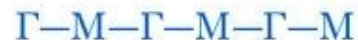
- Поперечные цепочки – пентапептид, содержащий глицин.
- У разных видов бактерий боковые и поперечные пептиды различны.
- Пентапептид связывает боковые тетрапептиды (D-аланин одной цепи – ДАП другой)

Строение клеточной стенки бактерий

Firmicutes (грамположительные)	Gracillicutes (грамотрицательные)
Пептидогликан многослойный	Пептидогликан однослойный
Есть полимеры тейхоевых кислот	Нет тейхоевых кислот
Нет внешней мембраны	Есть внешняя мембрана (состоит из фосфолипидов, белков, полисахаридов и липополисахаридов)
По Граму – фиолетовый цвет	По Граму – розовый цвет
Под действием лизоцима образуют протопласты	Под действием пенициллина образуют сферопласты

Строение пептидогликана грамположительных бактерий

- **Пептидогликан** имеет волокнистую структуру и состоит из параллельно расположенных молекул **гликана**, образованного повторяющимися остатками **N-ацетилглюкозамина (Г)** и **N-ацетилмурамовой кислоты (М)**, соединенных **гликозидной** связью



- Соседние молекулы **гликана** соединяются через N-ацетилмурамовые кислоты (М) **тетрапептидной связью** (состоит из 4 аминокислот, например, L-ала—D-глу—L-лиз—D-ала).



L-ала

L-ала

D-глу

D-глу

L-лиз-гли-гли-гли-гли-гли-L-лиз

D-ала

D-ала



- Тетрапептиды соединены друг с другом полипептидными цепочками из 5 остатков глицина = **пентаглицин**

Строение клеточной стенки грам(+) бактерий

Имеет толщину 20-80 нм (~40 молекул пептидогликана), плотно прилегает к ЦПМ, имеет **поры диаметром 1-6 нм**.

Тейхоевые кислоты

пронизывают

пептидогликановый слой,

ковалентно связываются с

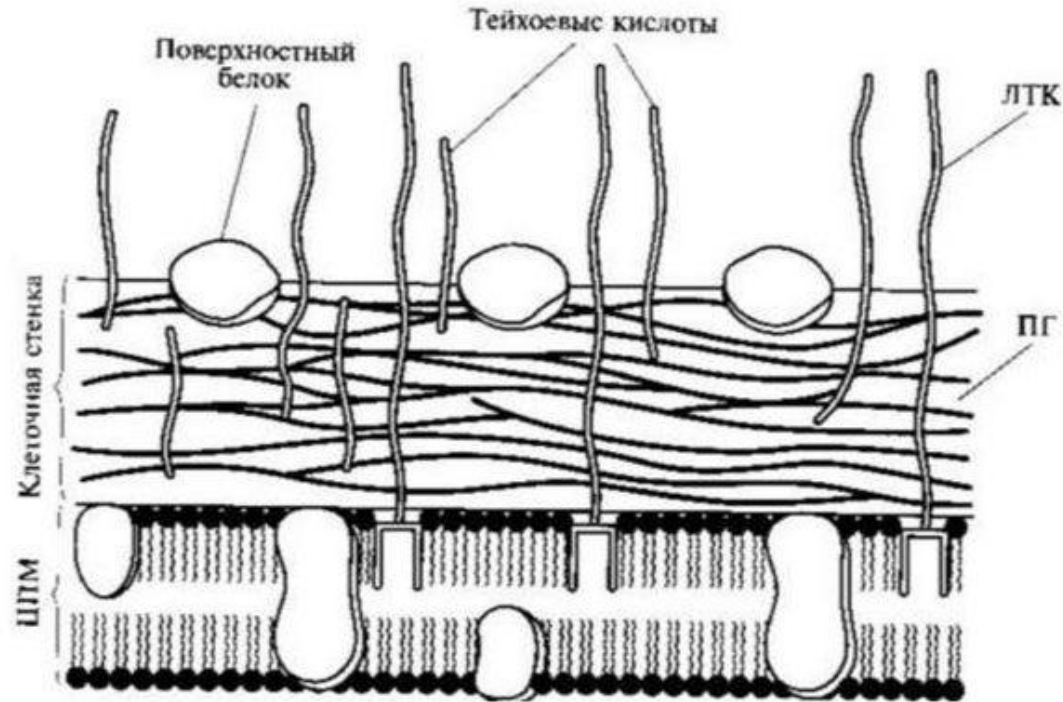
пептидогликаном (ПГ),

достигают внешней поверхности клеточной стенки и являются

антигенами, а их сахарные компоненты – **рецепторы для бактериофагов**.

Липотейхоевые кислоты

(ЛТК) закреплены в гидрофобной области ЦПМ.

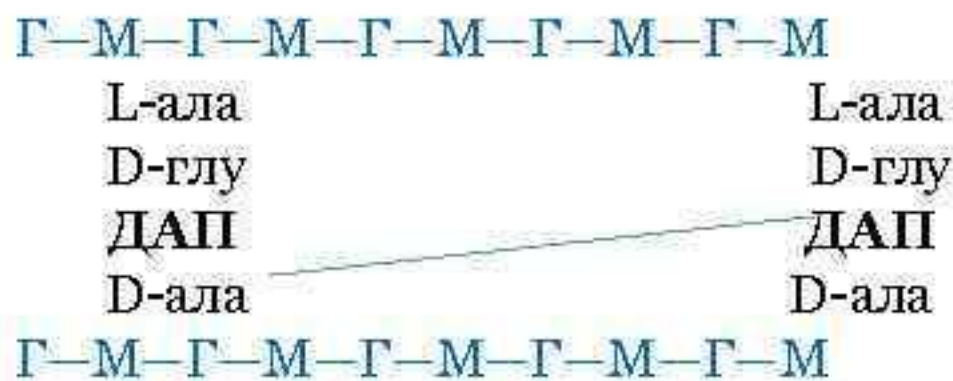


Полисахариды и липиды ковалентно связаны с пептидогликаном и тейхоевыми кислотами.

Белки располагаются на поверхности островками или тесно упакованы и формируют поверхностный слой – **S-слой**.

Строение пептидогликана грамотрицательных бактерий

- Пептидогликан - состоит из параллельных молекул гликана,
 $\Gamma-M-\Gamma-M-\Gamma-M$
- соседние молекулы гликана соединены тетрапептидами: L-ала—D-глу—мезо-диаминопимелиновая к-та—D-ала)
- тетрапептиды соединяются друг с другом через D-ала одной цепи и мезоДАП другой.



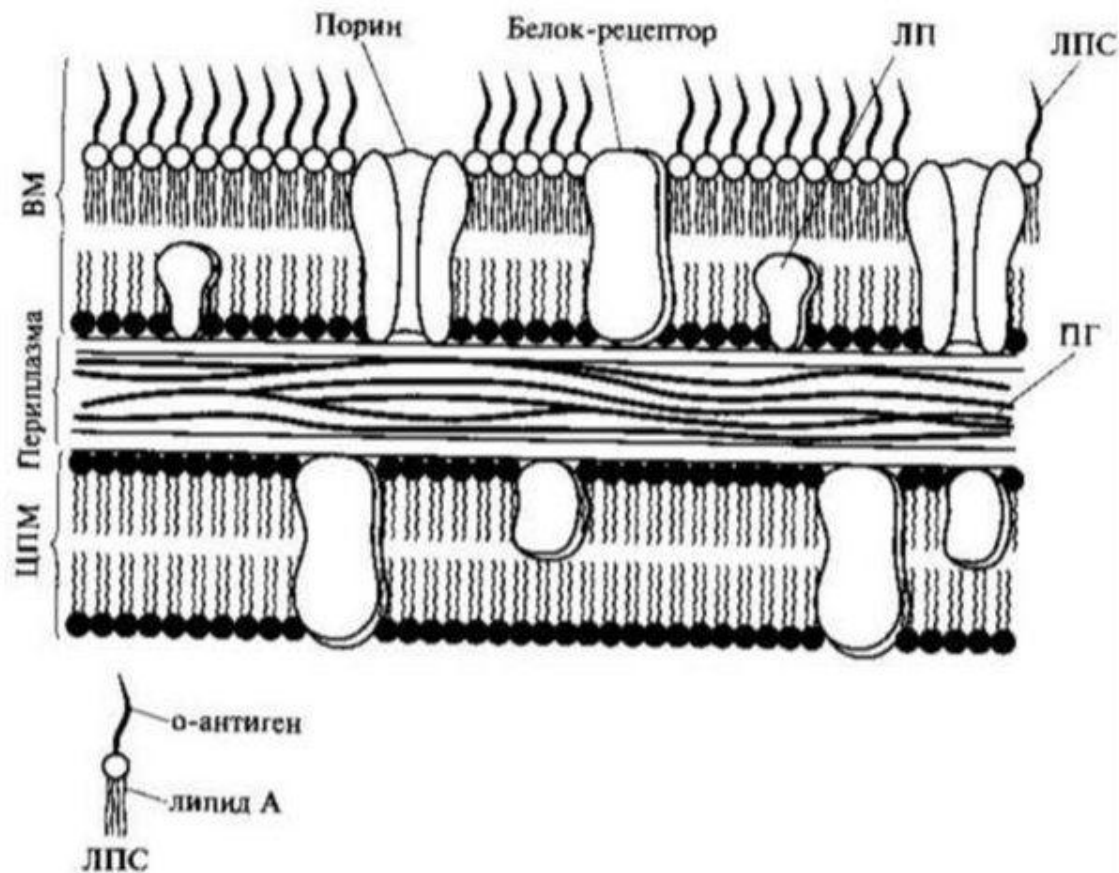
Строение клеточной стенки грам(-) бактерий

КС грам(-) бактерий имеет сложное строение. В их КС имеется:

Наружная (внешняя) мембрана (ВМ), она располагается поверх пептидогликанового слоя (ПГ), содержит липолисахариды (ЛПС) на внешней поверхности и липопротеины (ЛП) – на внутренней поверхности.

Липополисахарид состоит из липидной части, которая обращена внутрь наружной мембраны, и полисахаридной части, которая обращена во внешнюю среду и служит в качестве антигена.

В наружной мембране также находятся белки-порины, которые образуют в ней каналы для переноса малых молекул, и белки-переносчики и белки-рецепторы.



Между ЦПМ и наружной мембраной находится периплазматическое пространство (периплазма).

В периплазме - транспортные белки и ферменты-гидролазы (протеазы, липазы и др.).

Различия в строении клеточной стенки

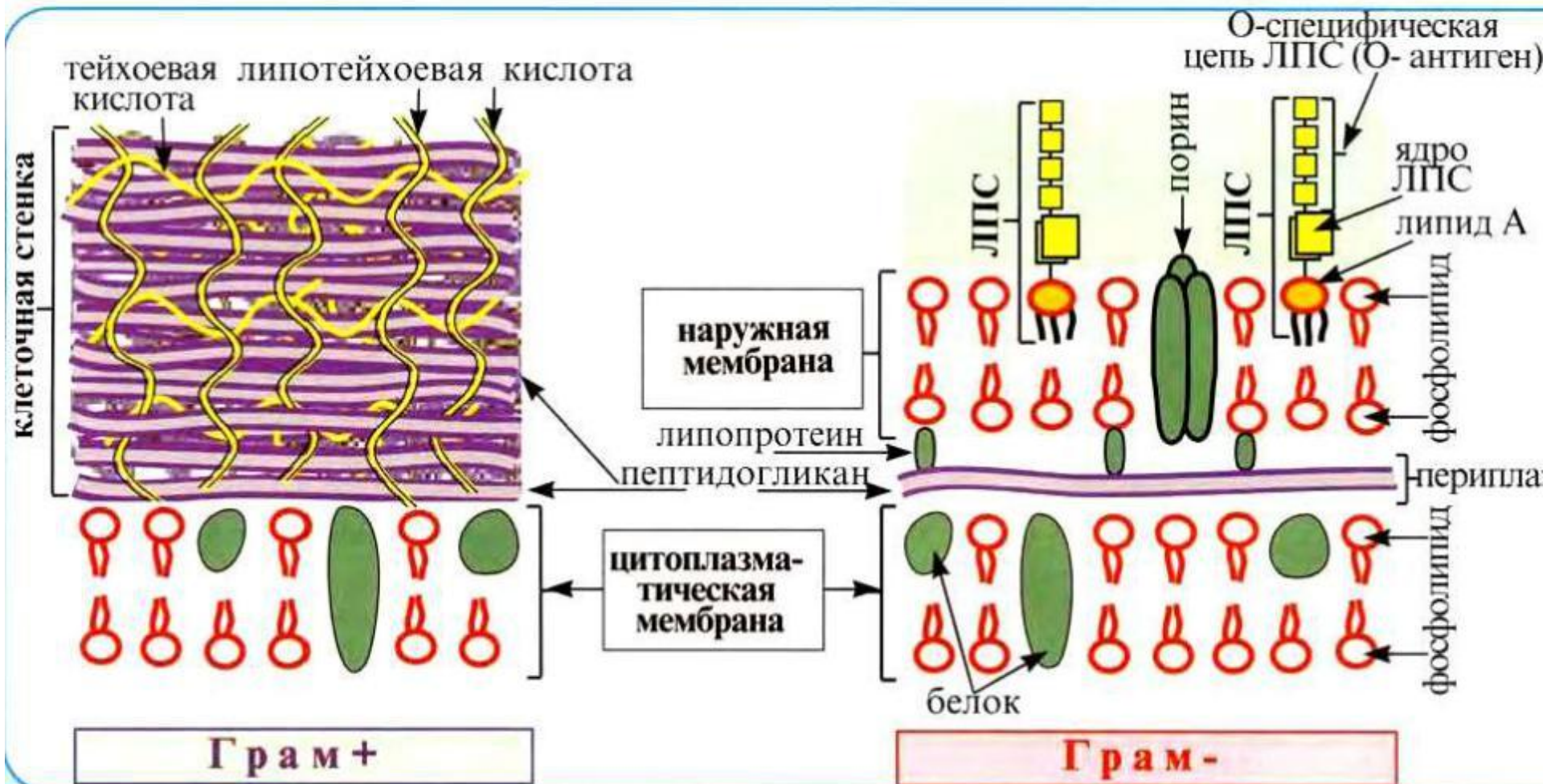


Рис. 3.5. Схема строения оболочек грамположительных и грамотрицательных бактерий

Дефектные формы бактерий



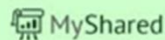
Методы определения строения клеточной стенки.

- Окраска по Граму. При окрашивании клеток генцианвиолетом (кристаллфиолетовым) и последующем докрашивании раствором люголя (J в KJ), в КС образуется комплекс пептидогликан+йод+генцианвиолет, который затем обесцвечивают спиртом.
- У грамотрицательных микроорганизмов, т.к. у них слой ПГ тонкий, весь окрашенный комплекс вымывается из клеточной стенки и они становятся бесцветными.
- У грамположительных комплекс остается связанным в толстом слое пептидогликана.
- В итоге после первого окрашивания – грам+ – синие, грам- - прозрачные.
- 2 этап окраски по Граму – этап докрашивания фуксином. После второго этапа грам+ остаются синими, а грам- становятся красными.

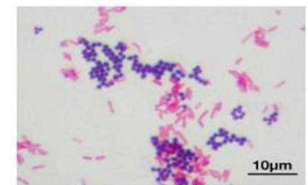
Метод окраски по Граму:

- на фиксированный мазок нанести раствор **генцианвиолета** на 1 - 2 минуты, краситель слить
- нанести **раствор Люголя** на 1 - 2 минуты
- нанести **спирт** на 30 - 60 секунд
- промыть водой
- докрасить раствором **фуксина** в течение 1-2 минут, промыть водой, высушить и микроскопировать

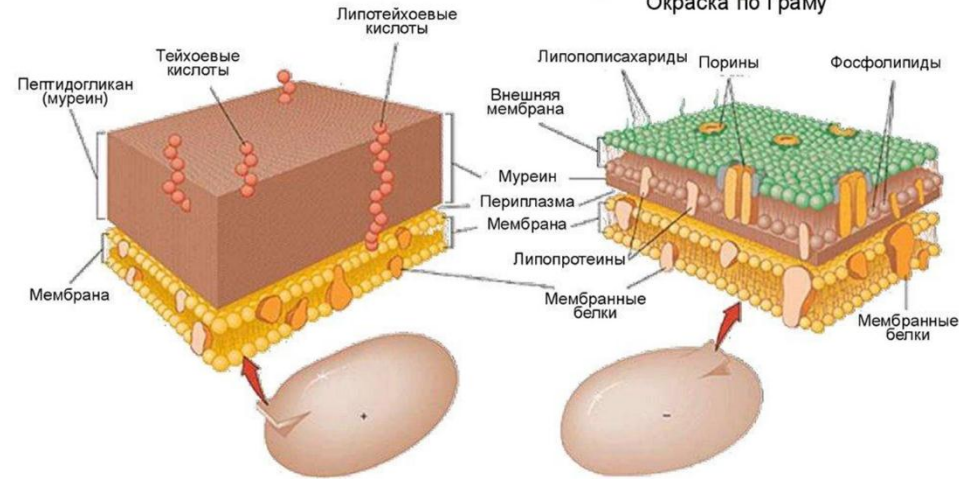
Гр+ бактерии – **фиолетовые**, Гр- бактерии – **красные**.



Клеточная стенка бактерий



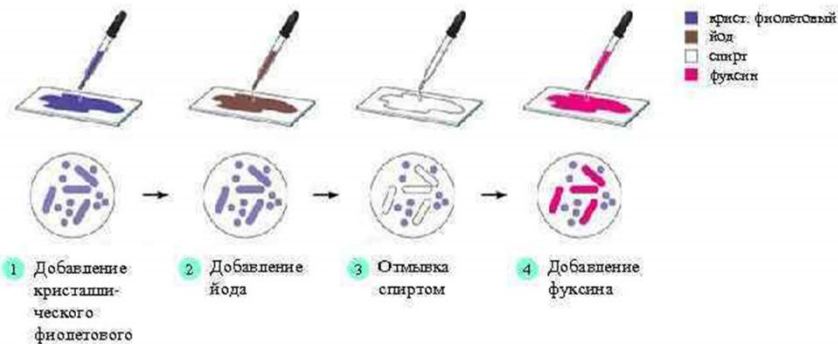
Окраска по Граму



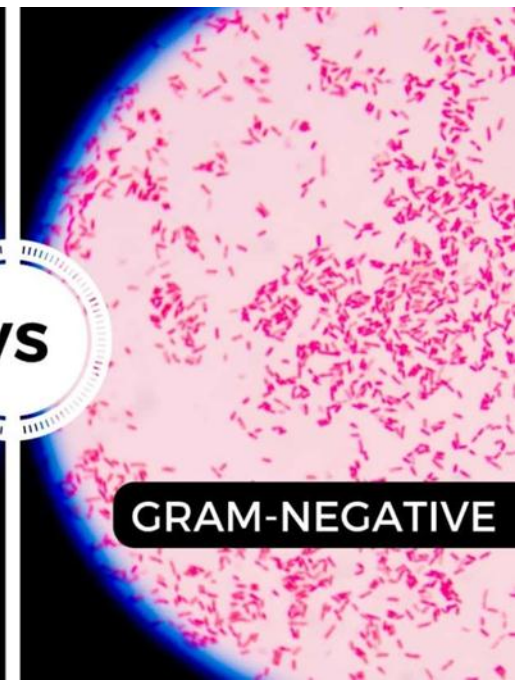
Грамположительные

Грампотрицательные

Основные этапы окраски по Граму



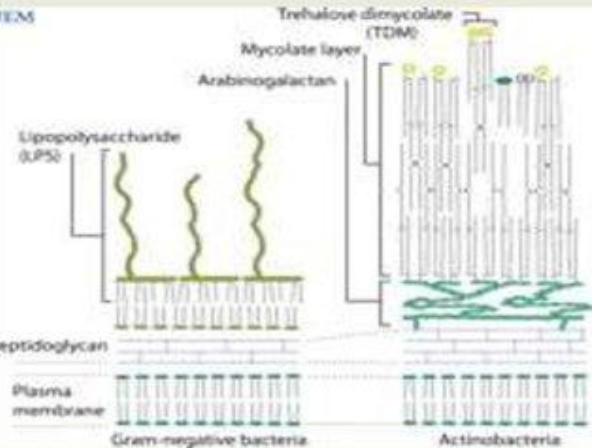
GRAM-POSITIVE



GRAM-NEGATIVE

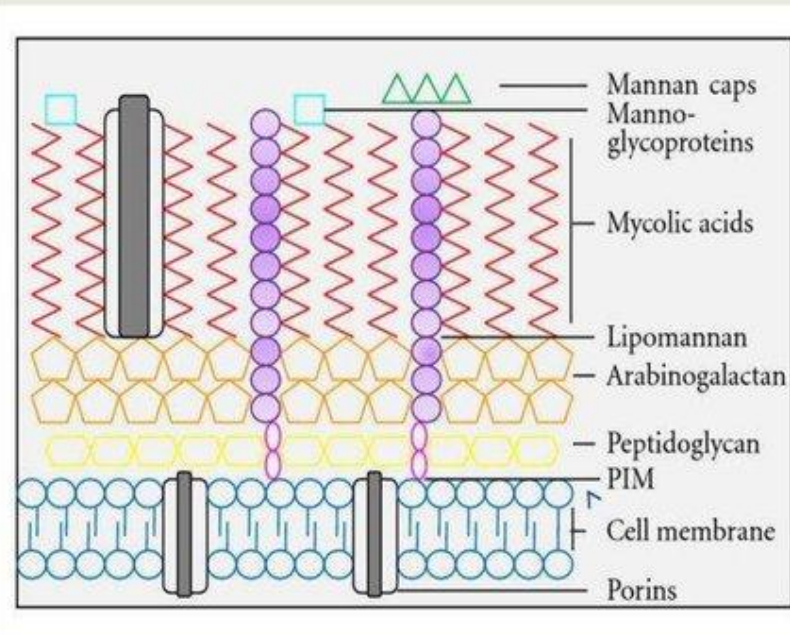
VS

Кислотоустойчивый тип клеточной стенки



- Для многих представителей порядка *Corynebacteriales* характерен особый тип строения клеточной стенки – кислотоустойчивая (acid fast), которая придает им высокую резистентность к действию различных факторов внешней среды. Наиболее значимым микроорганизмом, обладающим кислотоустойчивой клеточной стенкой, является *Mycobacterium tuberculosis* – возбудитель туберкулеза.

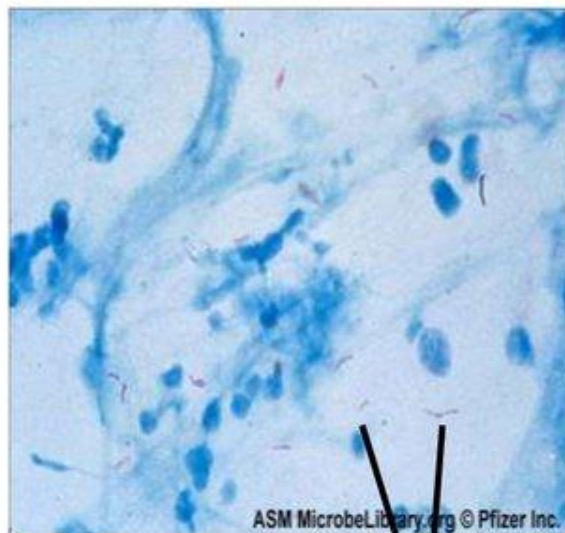
Поверх его пептидогликана располагается полисахаридный слой из арабиногалактана. Поверх него располагается гидрофобный слой, содержащий миколовые кислоты – особый класс разветвленных жирных кислот, содержащих до 90 атомов углерода. В этом слое располагаются корд-фактор (димиколат трегалозы), фтиоцерол димикоцерозат, сульфоллипиды, липоманнан и другие липидные молекулы. Благодаря малопроницаемому гидрофобному слою возбудитель туберкулеза обладает высокой резистентностью к высыханию, кислотам и щелочам, многим антибиотикам.



Клеточная стенка

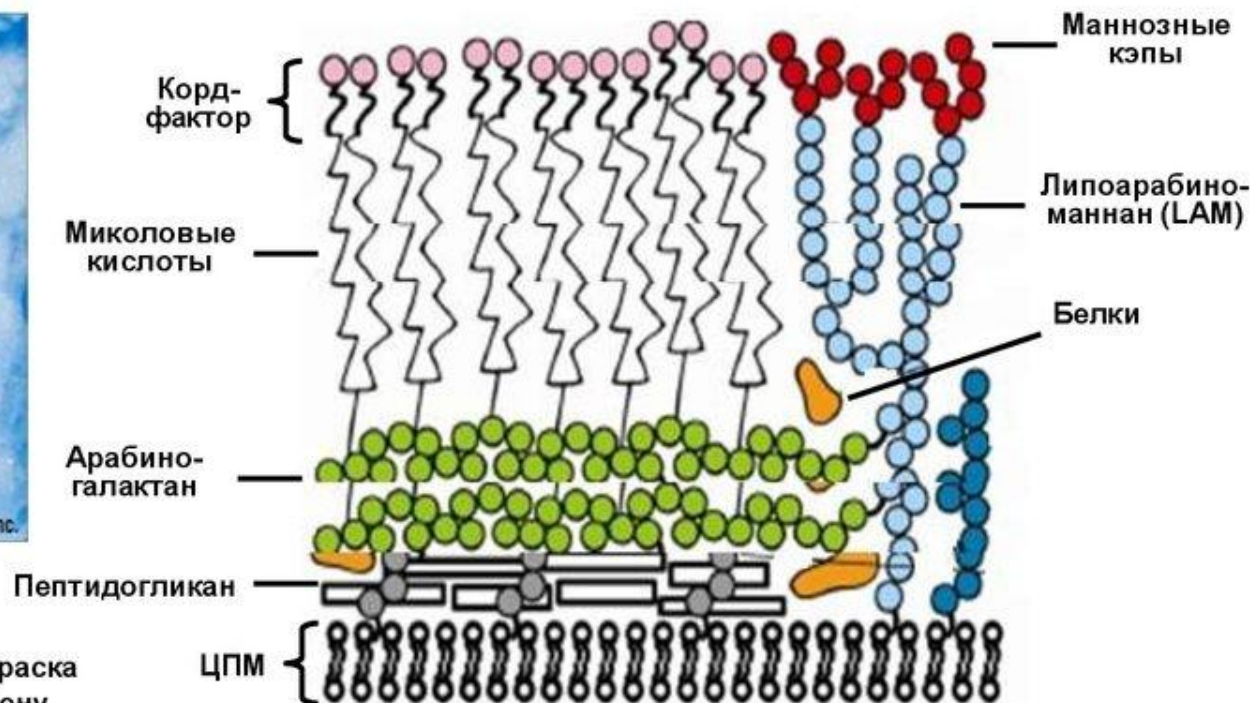


Кислотоустойчивые бактерии



ASM MicrobeLibrary.org © Pfizer Inc.

Микобактерии, окраска
по Цилю-Нильсену

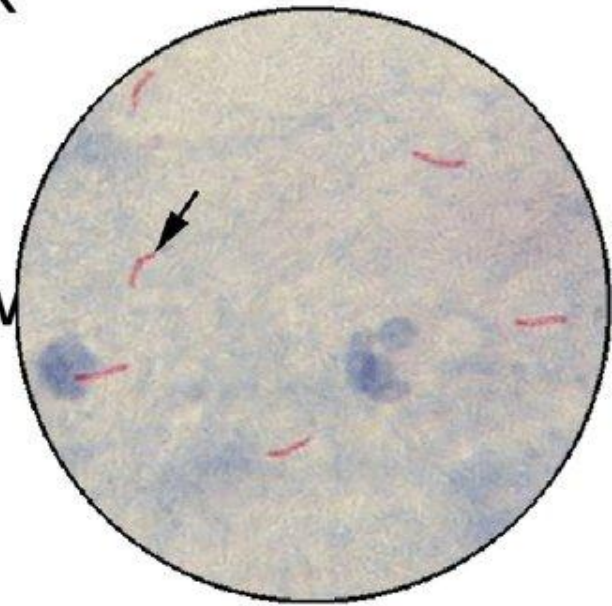


Park SH & Bendelac A (2000). CD1-restricted T-cell responses and microbial infection. Nature 406(6797): 788-92.

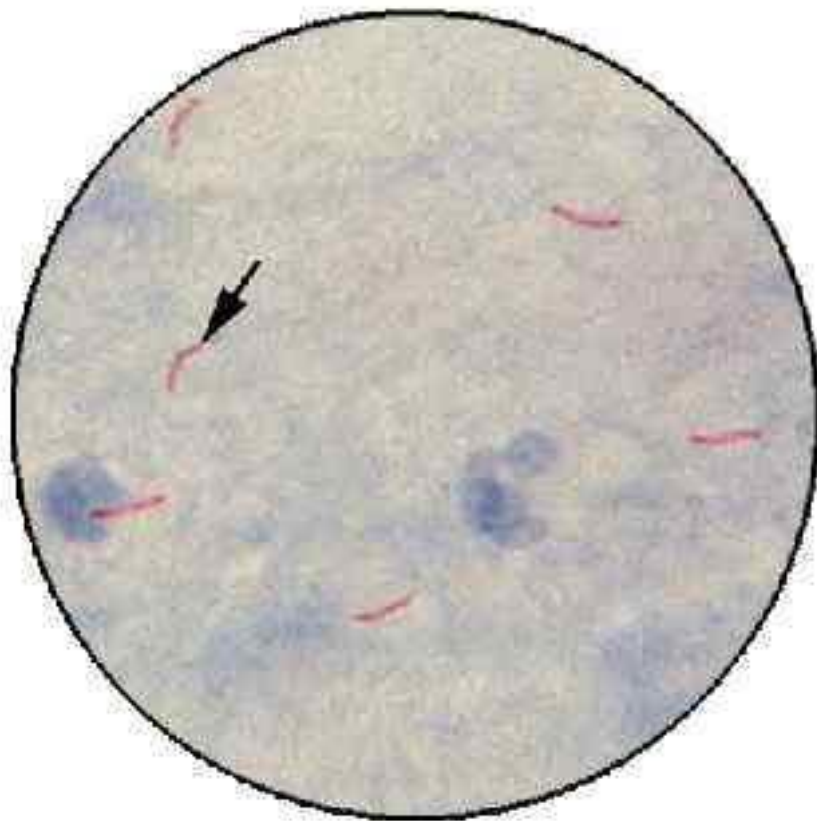
Кислотоустойчивые бактерии

- Г+ с высоким содержанием жирных кислот (туберкулостеариновая, миколовая и др.), восков, фосфолипидов → прочность, устойчивость к кислотам и щелочам
Mycobacterium tuberculosis.

- **Метод Циля-Нильсена:**
кислотоустойчивые бактерии не обесцвечиваются кислотой и остаются **рубиново красными**, а кислотонеустойчивые – обесцвечиваются и докрашиваются метиленовым синим в **синий цвет**.



Метод окраски по Цилю-Нильсену



Micobacterium tuberculosis.

Мазок мокроты больного туберкулезом.

1. Мазок окрашивают карболовым фуксином Циля (основной краситель) при нагревании 3-5 мин.
2. Обесцвечивают раствором серной кислоты (дифференцирующее вещество) в течение 1-2 мин.
3. Промывают водой.
4. Докрашивают 3-5 мин метиленовым синим (дополнительный краситель).

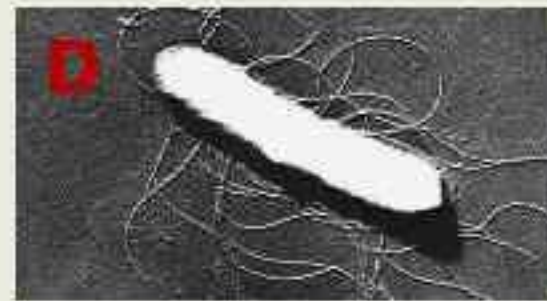
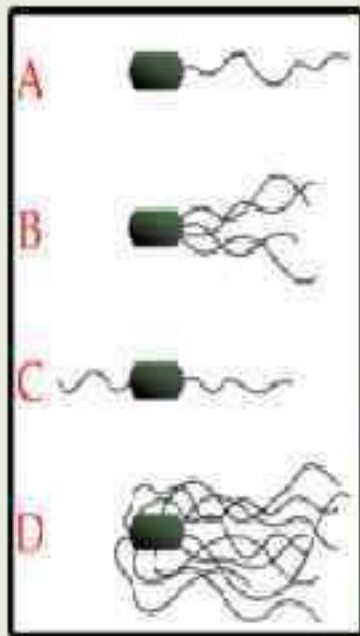
Поверхностные структуры бактерий:, волосовидные придатки - жгутики, пили, капсула

- **Жгутики** – аппарат движения (хемотаксис, аэротаксис, фототаксис) – нитевидные, спирально изогнутые структуры. Состоят из сократительного белка флагеллина. По количеству и расположению жгутиков выделяют бактерии – монотрихи, лофотрихи (пучок), амфитрихи (по полюсам), перитрихи (по всему периметру).
- **Common пили** (реснички) – короткие нити, аппарат адгезии к субстратам (слизистым).
- **F-пили** – фактор фертильности – аппарат конъюгации.
- **Капсула** (слизистый слой, чаще состоит из полисахаридов и выявляют по Бурри-Гинсу) защищает от высыхания, фагоцитоза, у сапрофитов – во внешней среде, у патогенов – в организме хозяина.



Жгутики бактерий

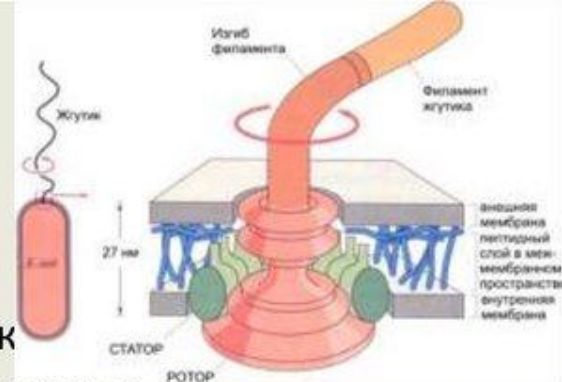
- поверхностные структуры, определяющие способность клетки к движению в жидкой среде.
- их число, размеры, расположение являются постоянными для вида признаками, т.е. могут служить таксономическим показателем.
- Бактерии могут иметь один **А** (**монотрихи**, род *Vibrio*) или несколько жгутиков, располагающихся по всей поверхности тела **Д** (**перитрихи**; энтеробактерии, возбудители столбняка, ботулизма), либо собранные в пучки **В** **лофотрихи**; род *Pseudomonas*), у **амфитрихов** **С** жгутики (один или пучок) расположены на обоих полюсах клетки (род *Spirillum*).



С амфитрихи



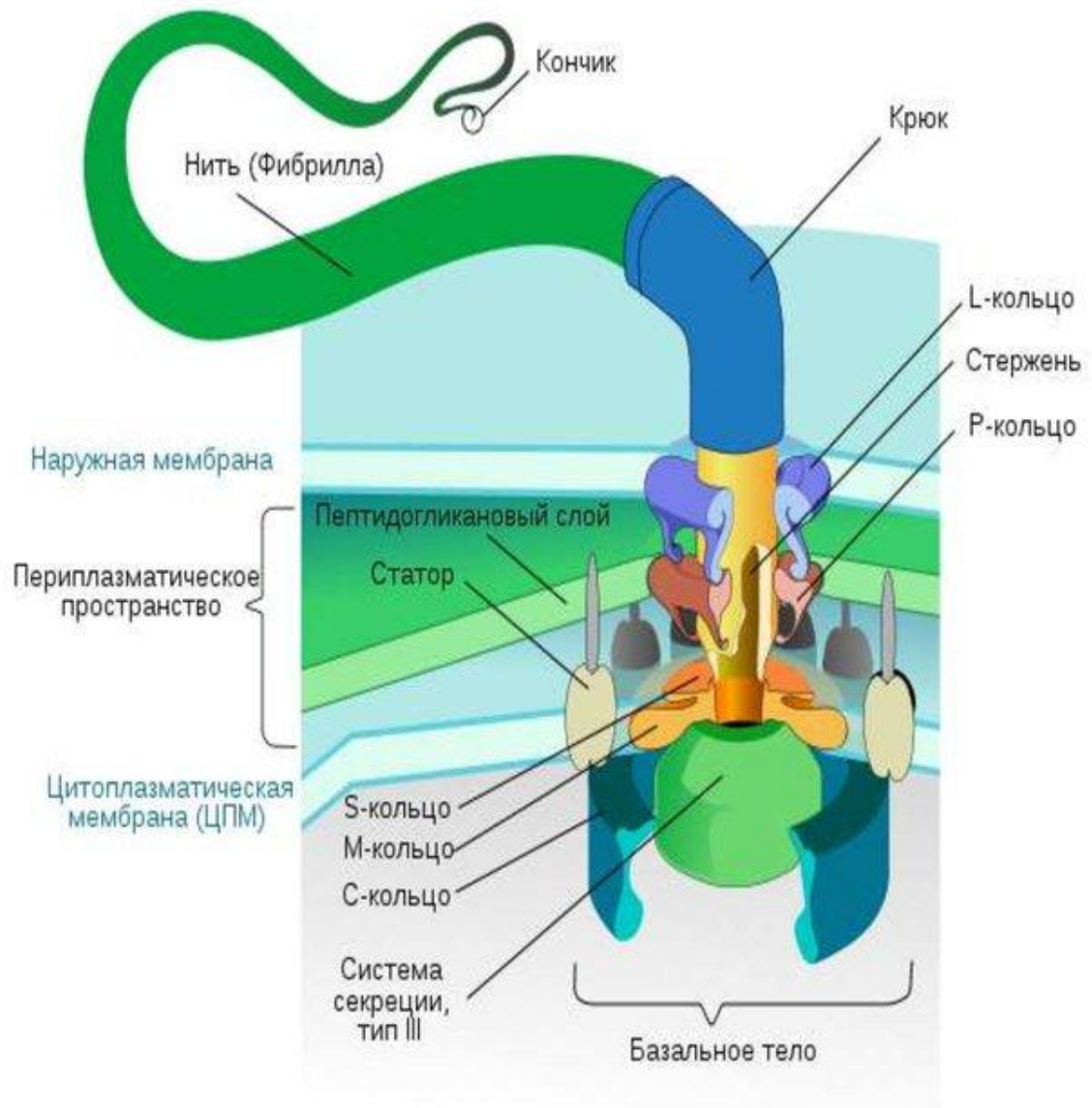
Жгутики бактерий



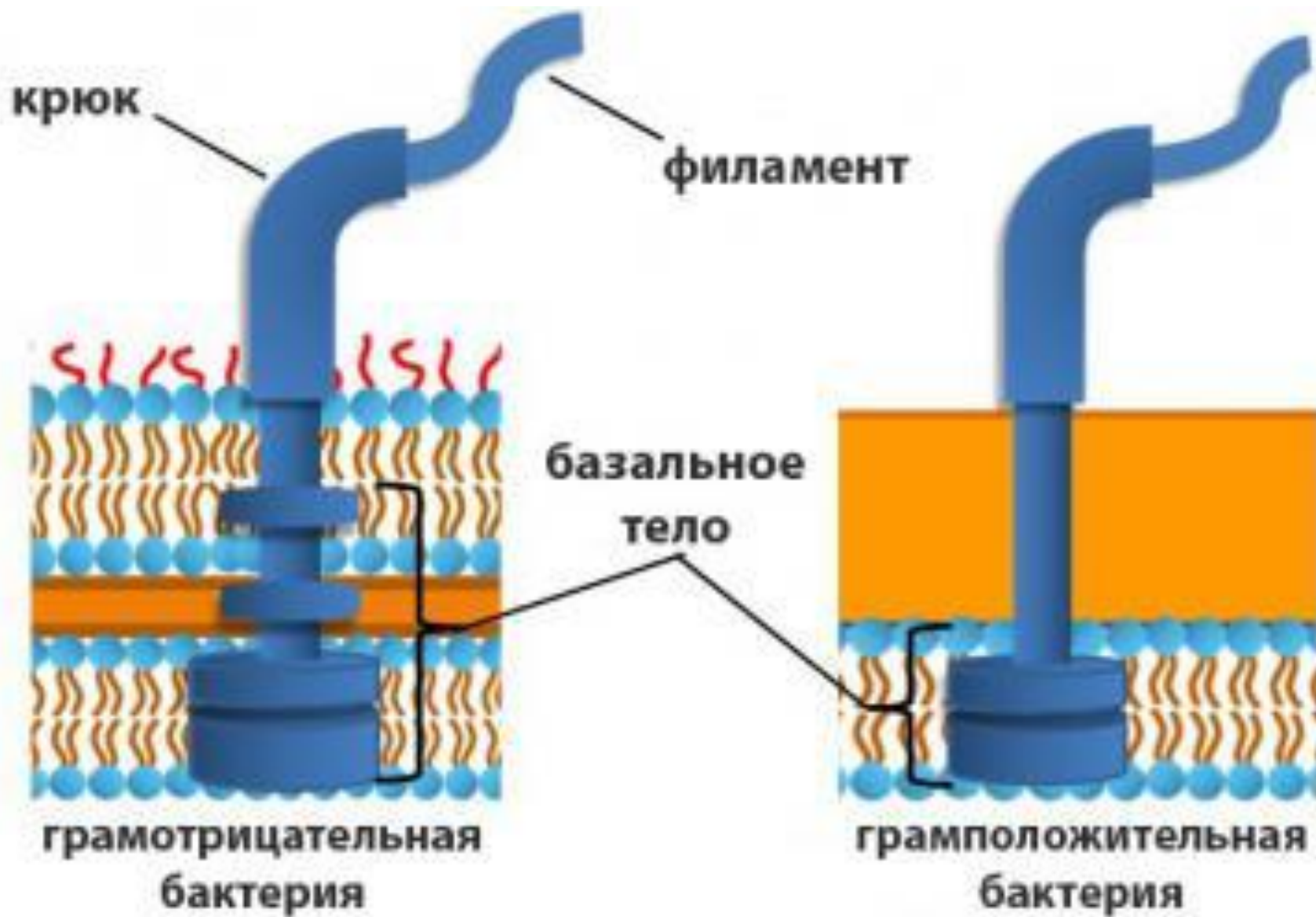
- ❑ Основную массу жгутика составляет длинная спирально закрученная (фибрилла), у поверхности клеточной стенки переходящая в утолщенную изогнутую структуру—крюк.
- ❑ Нить с помощью крюка прикреплена к базальному телу, вмонтированному в ЦПМ и клеточную стенку.
- ❑ У большинства прокариот нить состоит из специфического белка **флагеллина**, который по своей структуре относится к сократительным белкам типа миозина.
- ❑ Вращение жгутиков передается клетке, начинающей вращаться в противоположном направлении, и обеспечивает эффективное движение (плавание) в жидкой среде и более медленное перемещение по поверхности твердых сред.
- ❑ Движение жгутиковых прокариот обеспечивается энергией трансмембранного электрохимического потенциала,
- ❑ Таким образом, прокариотическая клетка обладает механизмом, позволяющим превращать электрохимическую форму энергии непосредственно в механическую. Движение бактерий позволяет им выбрать оптимальные условия существования.

Строение жгутика

- **Филамент (фибрилла, пропеллер)** — полая белковая нить толщиной 10—20 нм и длиной 3—15 мкм, состоящая из флагеллина, субъединицы которого уложены по спирали. Полость внутри используется при синтезе жгутика — он происходит в направлении от плазматической мембраны. По полости к собираемому в настоящий момент участку переносятся субъединицы флагеллина.
- **Крюк** — более толстое, чем филамент (20—45 нм), белковое (не флагеллиновое) образование.
- **Базальное тело** — трансмембранный мотор.

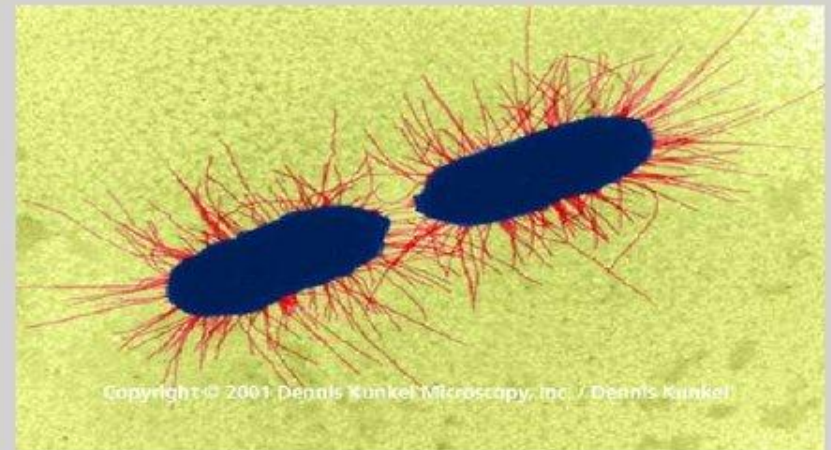
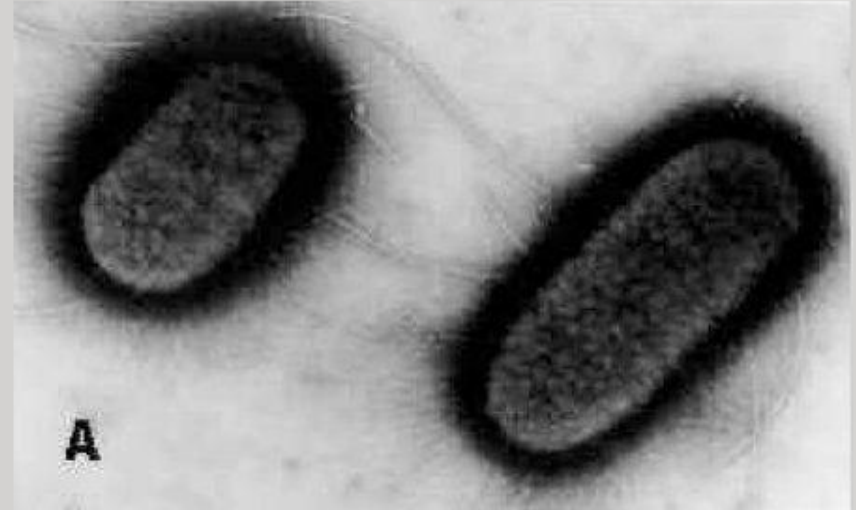


Прикрепление жгутиков у Гр+ и Гр- бактерий

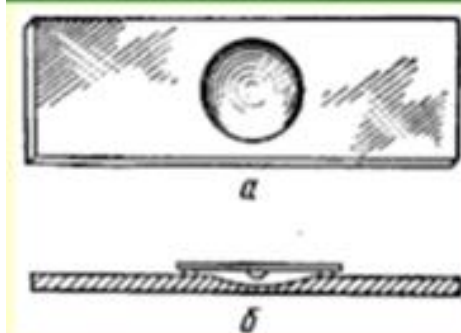


Жгутики бактерий

- **Выявление жгутиков**
- косвенное – по факту подвижности бактерий
- прямое:
 - специальные методы окраски
 - фазово-контрастная микроскопия (у лофотрихов)
 - электронная микроскопия



Микроскопия нативных (неокрашенных) микроорганизмов



Бактериальная культура в жидкой среде.

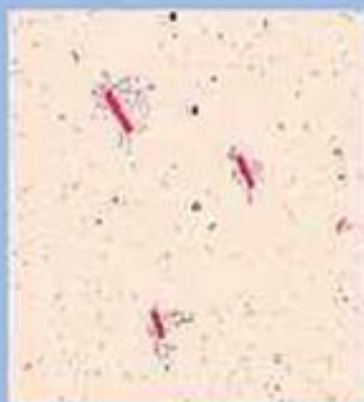


Препараты «раздавленная капля»
Исследуемый материал (бактериальная культура в физиологическом растворе) наносят на предметное стекло, которое покрывают покровным. Капля материала заполняет все пространство между покровным и предметным стеклом, образуя ровный слой.

Предметные стекла с полированными лунками (а) и шлифованными краями разработаны для микроскопии препаратов «висячая капля» (б).
Толщина стекла - 1 мм.

Окраска жгутиков по методу Лёффлера

- Для окраски жгутиков используют клетки 12—16-часовой культуры.
 - Клетки легко теряют жгутики в момент приготовления мазка, поэтому необходимо обращать внимание на чистоту стекла и способ нанесения на него суспензии.
 - Высушенный мазок заливают протравой (смесь равных объемов гипертонического раствора хлорида натрия и танина) на 15 мин, промыть дистиллированной водой
 - Препарат окрасить в течение 5 мин разбавленным фуксином Циля, промыть водой, высушить на воздухе.
- Обращают внимание на расположение жгутиков, их количество и длину.



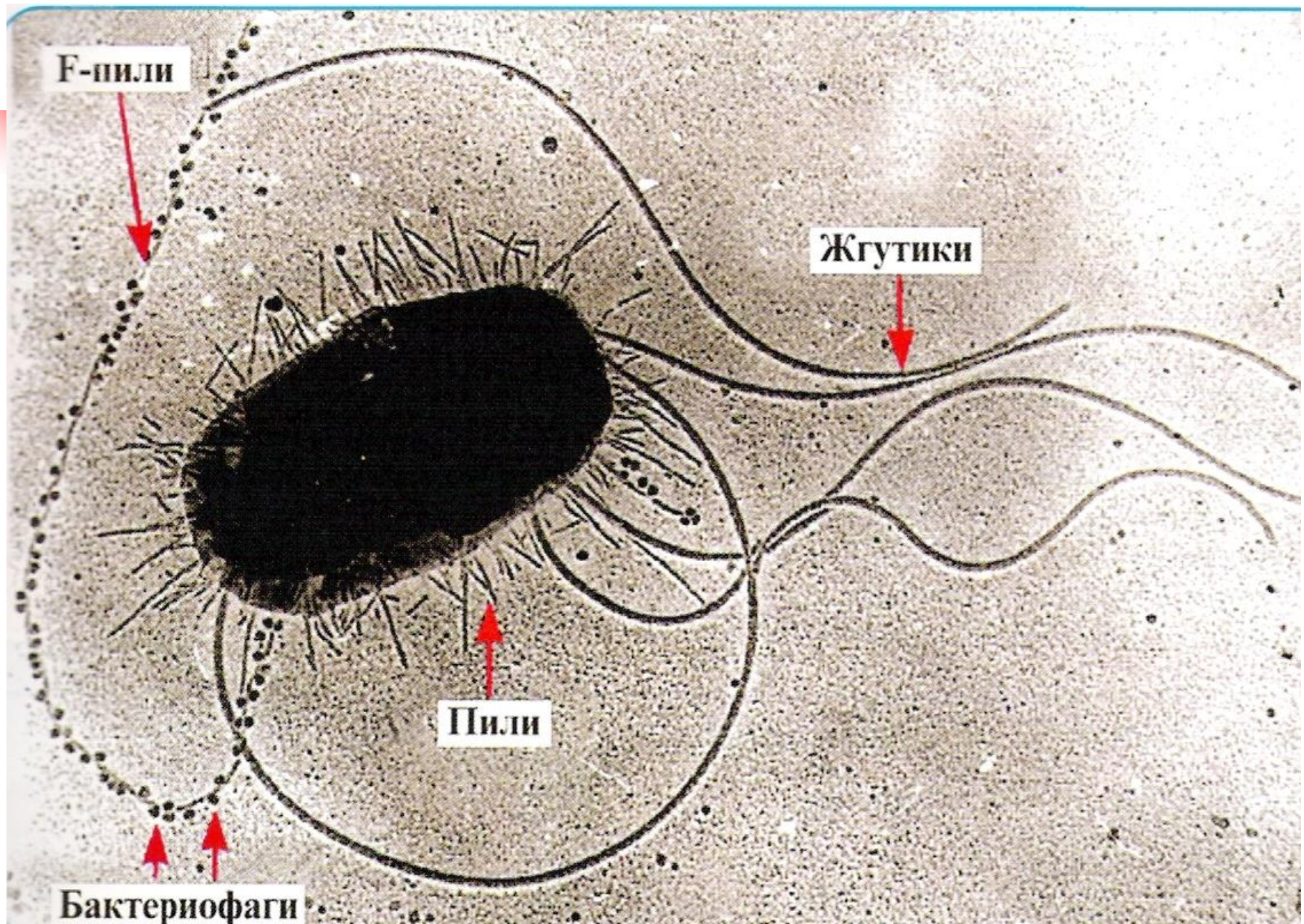
Фридрих Август Иоганн Лёффлер (Friedrich August Johannes Loeffler, 1852—1915) — немецкий бактериолог и гигиенист. Один из основоположников медицинской микробиологии. В 1882 году открыл возбудителя сальвы. В 1884 году выделил в чистой культуре возбудителя дифтерии, открытого Эдвином Клебсом (дифтерийная палочка Клебса-Лёффлера). В 1891 году открыл бактерии мышиного тифа и использовал их для борьбы с полевыми мышами.



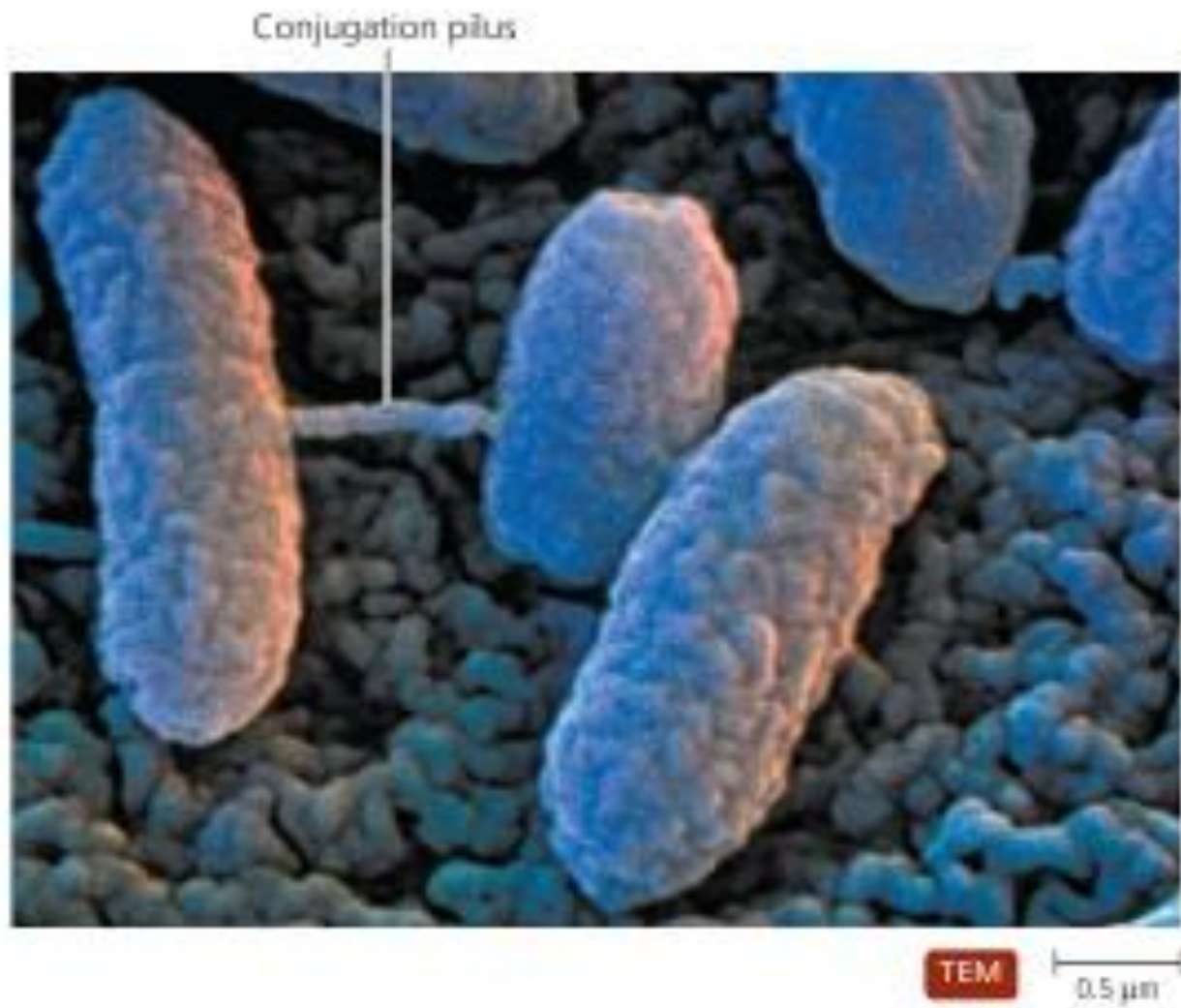
Пили (ворсинки, фимбрии)

- Тонкие полые нити белковой природы длиной 0,3-10 мкм, толщиной 10 нм, покрывающие поверхность бактериальных клеток. В отличие от жгутиков не выполняют локомоторную функцию. По своему функциональному назначению подразделяются на несколько типов.
- Пили 1 общего типа обуславливают прикрепление или адгезию бактерий к определенным клеткам организма хозяина. Их количество велико - от нескольких сотен до нескольких тысяч на одну бактериальную клетку. Адгезия является первоначальной стадией любого инфекционного процесса.
- Пили 2 типа (синоним: конъюгативные, или половые, пили — sex pili, F-пили) участвуют в конъюгации бактерий, обеспечивающей перенос части генетического материала от донорной клетки к реципиентной. Они имеются только у бактерий-доноров в ограниченном количестве (1-4 на клетку).

Жгутики и пили (в том числе, F-пили) у бактерий

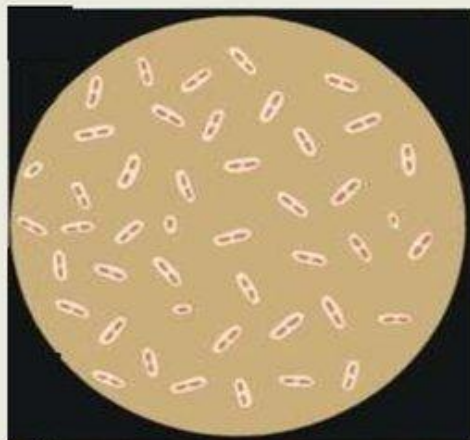


Конъюгационные пили бактерий



▲ **Figure 3.11 Pili.** Two *Salmonella* cells are connected by conjugation pili. How are pili different from bacterial flagella?

Поверхностные структуры бактериальной клетки

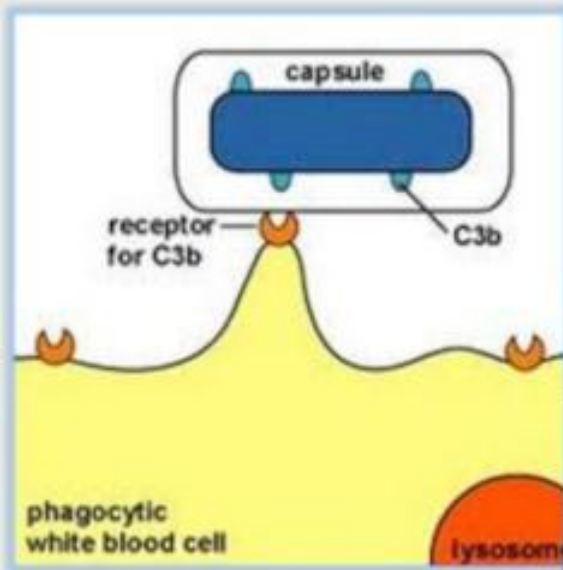


Капсулы вокруг
клеток. Метод
Бурри-Гинса

KLEBSIELLA PNEUMONIA

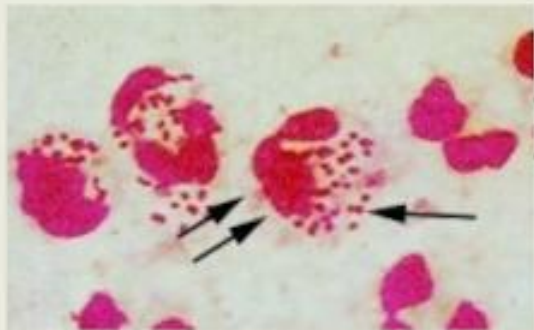
- ❑ **Капсула** - слизистая структура толщиной более 0,2 мкм, прочно связанная с клеточной стенкой бактерий и имеющая четко очерченные внешние границы.
- ❑ Она защищает бактериальную клетку от механического повреждения, высыхания, фагоцитоза.
- ❑ Некоторые бактерии образуют капсулы только в организме человека и животных, другие формируют их и при культивировании на средах.
- ❑ В большинстве случаев капсулы бактерий являются полисахаридными (например, у питательных представителей родов *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Neisseria*, *Klebsiella*).
- ❑ У представителей рода *Bacillus* встречаются полипептидные капсулы, например, капсула из полимера D-глутаминовой кислоты у возбудителя сибирской язвы *Bacillus anthracis*.

Поверхностные структуры бактериальной клетки



Функции капсул и слизи:

- ☐ защитная (предохраняют клетку от механических повреждений, высыхания и т. п.);
- ☐ создают дополнительный осмотический барьер;
- ☐ служат барьером для бактериофагов, препятствуя их адсорбции на клетках бактерий;
- ☐ обеспечивают прикрепление клеток к поверхности субстрата (адгезия);
- ☐ а также являются источником запасных питательных веществ;
- ☐ объединяют клетки в группы, цепочки.
- ☐ В организме человека и животных капсула защищает патогенные бактерии от фагоцитоза и гуморальных факторов иммунитета, определяет антигенную специфичность микроорганизмов.

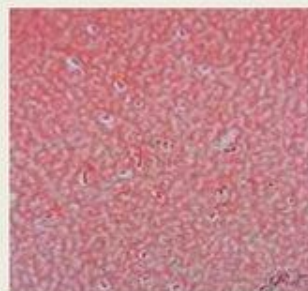


Методы выявления капсул

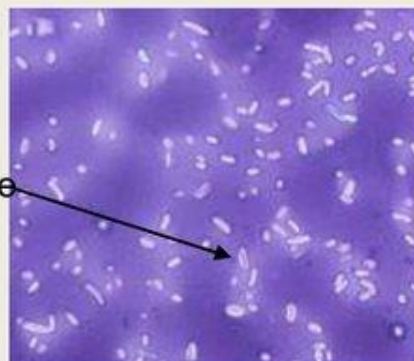
	метод Бурри-Гинса (цитохимический)
цель метода	Выявление капсулы у бактерий в чистой культуре
основной краситель	не окрашивается, применяется оттеняющее вещество - тушь
протрава	-
дифференцирующее вещество	-
дополнительный краситель	карболовый раствор фуксина
способ фиксации препарата-мазка	в пламени спиртовки (в этаноле) до окрашивания
этапы окраски	В каплю туши добавить каплю жидкости с микроорганизмами и растереть тонким слоем как мазок крови; Высушить и зафиксировать; Окрасить фуксином Циля 1 мин.; Высушить
сущность метода	Капсула не окрашивается, задерживает тушь на поверхности, а фуксин окрашивает бактериальную клетку



Метод Бурри-Гинса: на фоне туши видны красные палочки, окруженные бесцветной капсулой



Str.pneumoniae
Простой метод (фуксин)



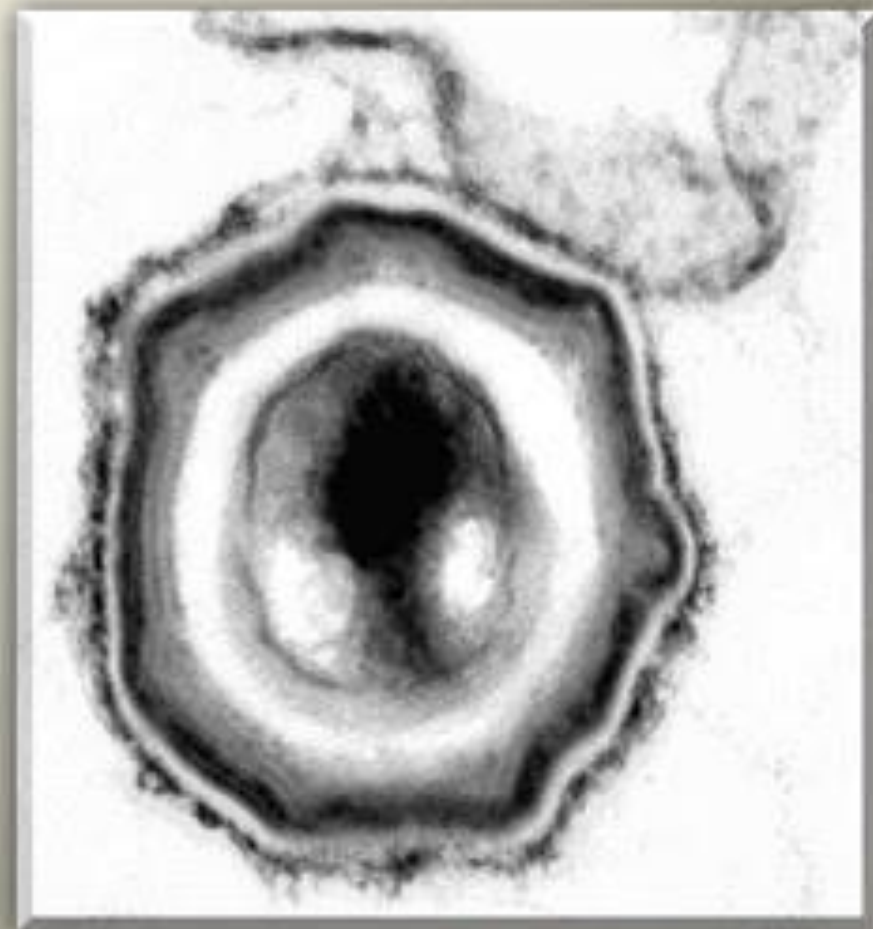
- Капсулы имеют консистенцию геля, плохо удерживают краситель, и для их выявления чаще всего применяют методы негативного контрастирования
- Капсула выявляется при любом методе окраски в виде неокрашенной зоны между окрашенными телом бактерий и субстратом.
- При простом методе и методе Грама достаточно не промывать мазок на последнем этапе окраски



Грамположительные палочки рода *Bacillus*
Окраска по Граму

Споры бактерий

- Споры бактерий —
покоящиеся репродуктивные
клетки, характеризующиеся
сниженным уровнем
метаболизма и особой
ультраструктурной
организацией. Основная
функция — репродукция и
(или) сохранение бактерий в
неблагоприятных условиях
внешней среды.



Спорообразование

- **Спорообразование** у бактерий — способ переживания неблагоприятных условий. Споры формируются обычно по одной внутри «материнской клетки» и называются эндоспорами.
- Споры обладают высокой устойчивостью к радиации, экстремальным температурам, высушиванию и другим факторам, вызывающим гибель вегетативных клеток.

Спора и спорообразование у бактерий

- Место образования:

- внешняя среда (не в организме человека)
- искусственная питательная среда

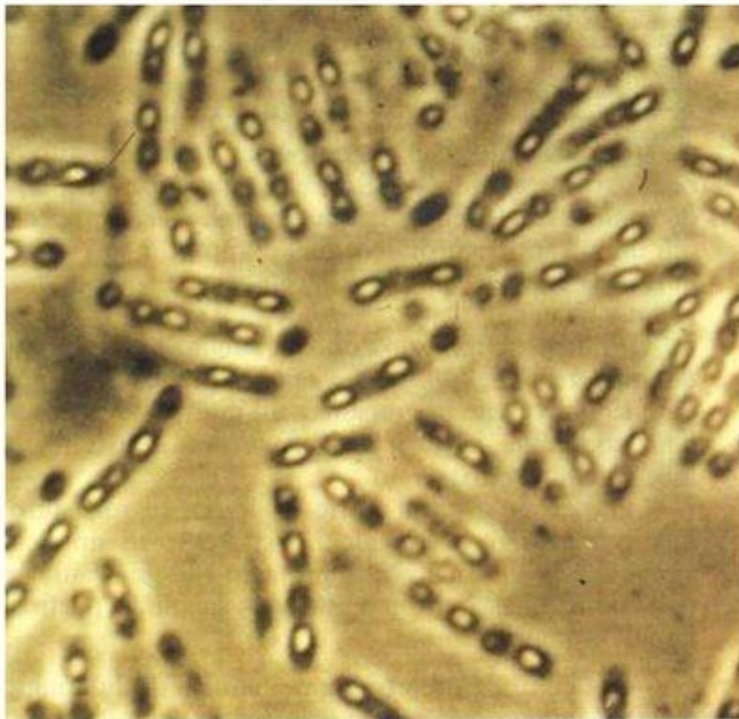
- Факторы, обуславливающие термоустойчивость:

- практически полное отсутствие свободной воды
- повышенная концентрация кальция
- наличие дипиколиновой кислоты
- особое строение белка
- особое строение пептидогликана кортекса

Спорообразующие бактерии

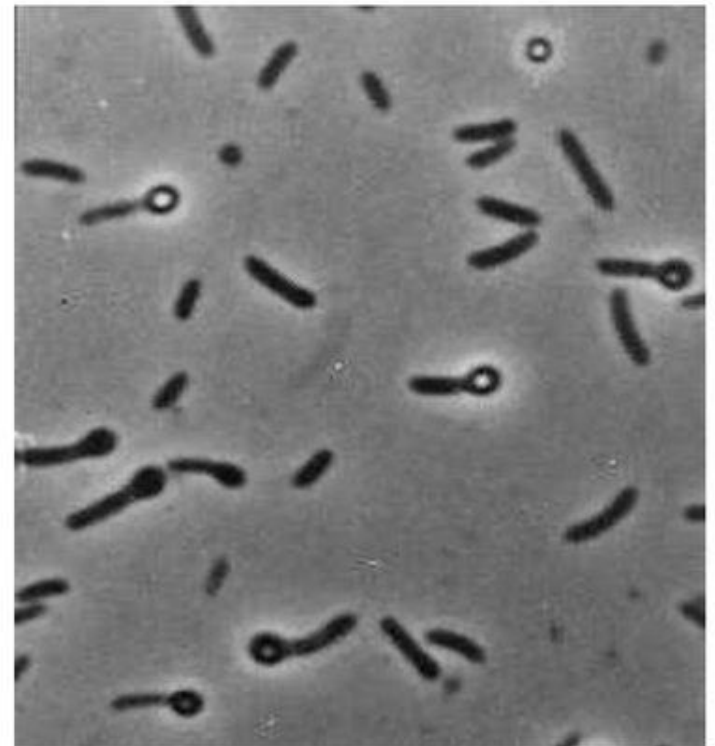
Бациллы

(спора меньше диаметра
клетки)



Клостридии

(спора больше диаметра
клетки)



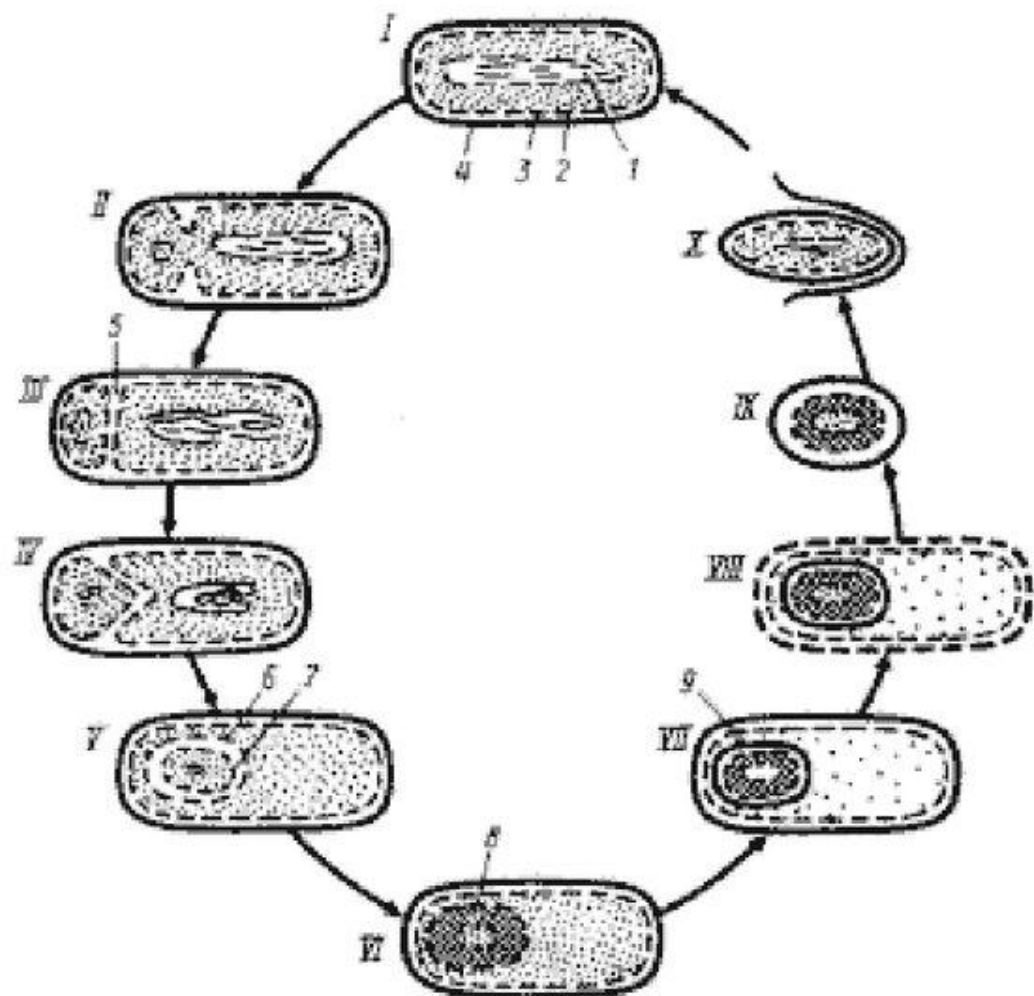
- **Форма спор может** быть овальной, шаровидной;
- **расположение в клетке — терминальное**, т. е. на конце палочки (у возбудителя столбняка),
- **субтерминальное** — ближе к концу палочки (у возбудителей ботулизма, газовой гангрены)
- **центральное** (у сибиреязвенной бациллы).



Рис. 4–14. Расположение спор у бактерий.

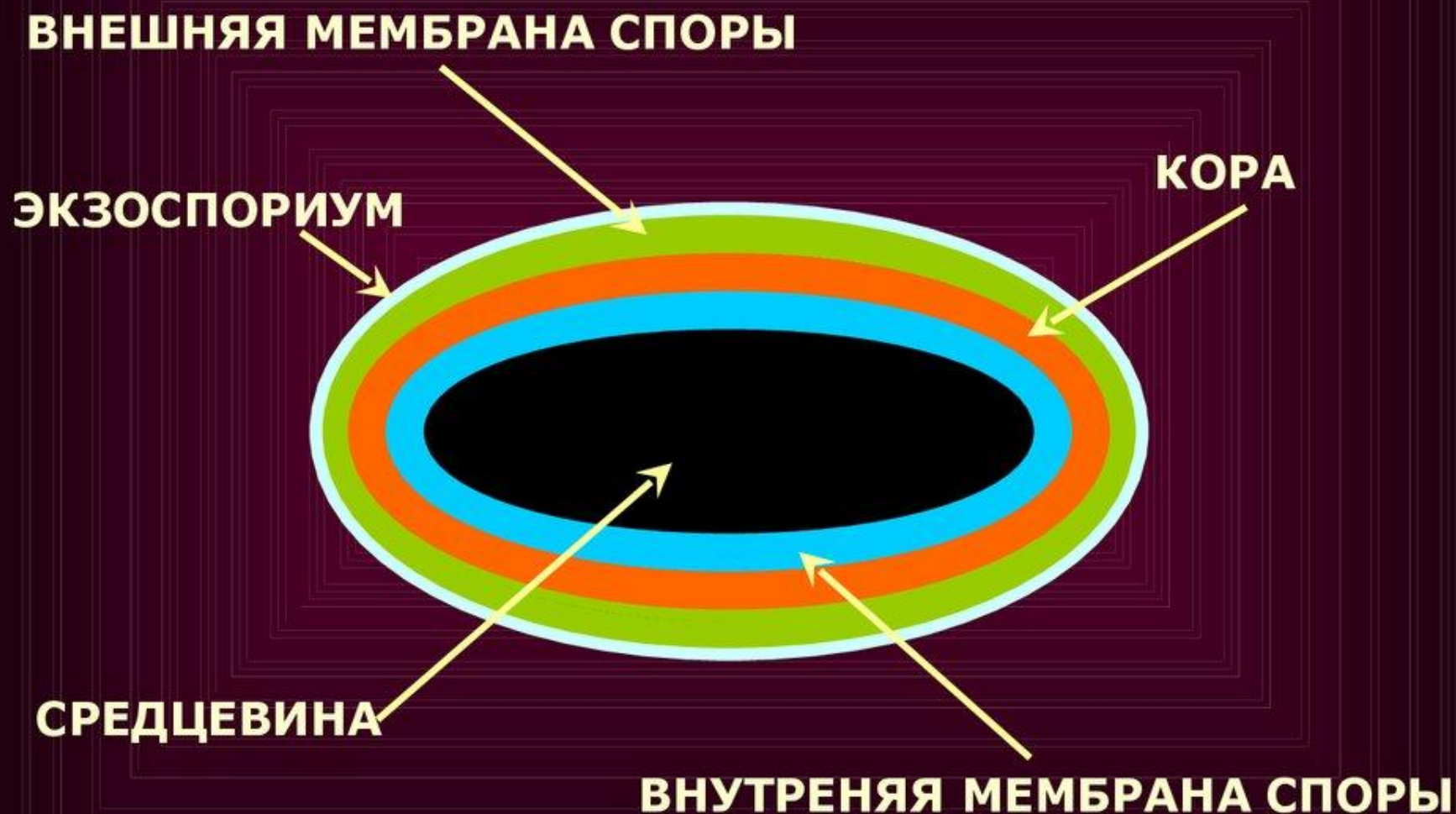
Формирование эндоспоры спорообразующими бактериями

- I — вегетативная клетка;
- II — инвагинация ЦПМ;
- III — образование споровой перегородки (септы);
- IV — формирование двойной мембранной системы образующейся проспоры;
- V — сформированная проспора;
- VI — формирование кортекса;
- VII — формирование покровов споры;
- VIII — лизис материнской клетки; IX — свободная зрелая спора,
- X — прорастание споры.



- 1 — нуклеоид; 2 — цитоплазма; 3 — ЦПМ; 4 — клеточная стенка; 5 — споровая перегородка; 6 — наружная мембрана споры; 7 — внутренняя мембрана споры; 8 — кортекс; 9 — покровы споры

СХЕМА СТРОЕНИЯ СПОРЫ БАКТЕРИИ



Прорастание споры

□ Активация споры:

- прорастание споры активируется при прогревании
- активируют прорастание глюкоза и другие углеводы, многие аминокислоты (в первую очередь L- аланин), а также некоторые ионы

□ Инициация прорастания

- заключается в дерепрессии генома, мобилизации метаболических процессов;
- спора активно накачивает воду,

□ Собственно прорастание споры:

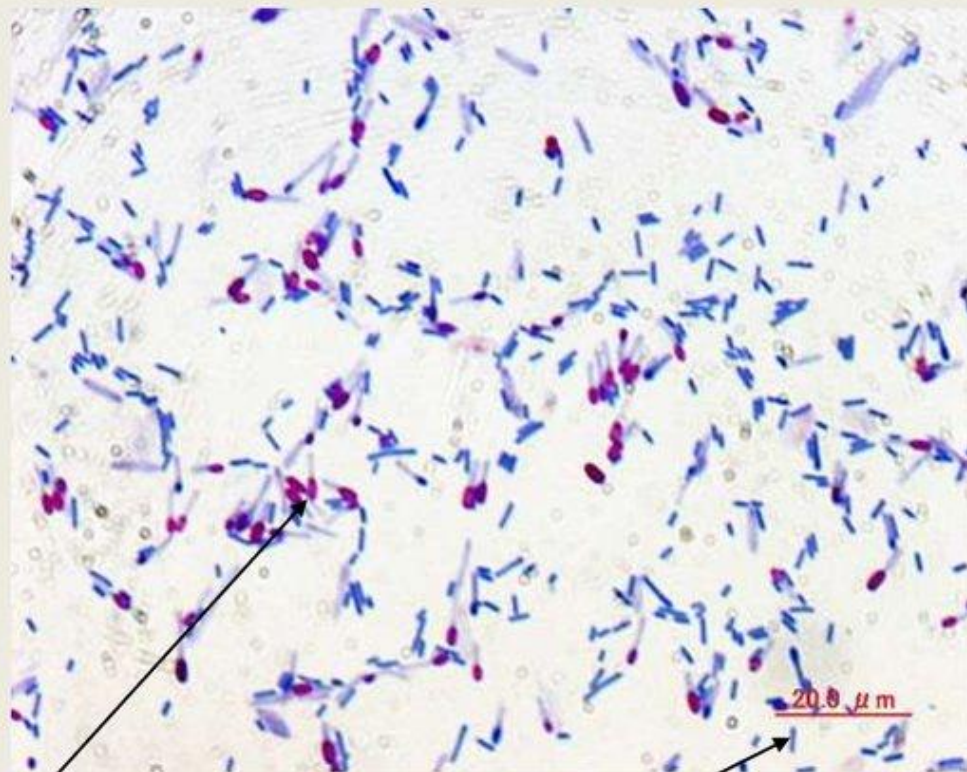
- характеризуется удалением из клетки дипиколиновой к-ты, ионов кальция, разрушением пептидогликана кортекса.
- в споре происходят глубокие физиологические изменения: усиливается дыхание, увеличивается активность ферментов
- этот процесс сопровождается снижением устойчивости споры к температуре, превращением в метаболические споры, из которых образуются вегетативные особи;
- выходящая из споры ростовая трубка бывает окружена очень тонкой и, видимо, неполностью сформированной клеточной стенкой
- в этот период спора утрачивает терморезистентность



Прорастающие споры.
1 – полярное прорастание споры *Clostridium* (с экзоспорием); 2 – полярное прорастание споры *Bacillus megaterium* (споровые оболочки не отделились); 3 – латеральное прорастание спор у бацилл (а – *B. cereus*; б – *B. subtilis*).

Методы выявления спор. Метод Ожешко

цель метода	Выявление спор у бактерий
основной краситель	фуксин Циля
протрава	соляная кислота (до окрашивания), карболовая кислота (в момент окрашивания)
дифференцирующее вещество	серная кислота
дополнительный краситель	водный раствор метиленового синего
способ фиксации препарата-мазка	в пламени спиртовки в процессе окраски
этапы окраски	На высушенный мазок наложить фильтровальную бумажку, налить 0,5% раствор соляной кислоты и нагревать над пламенем спиртовки до появления пара 3 раза; Далее окрашивать по Цилю-Нильсену.
сущность метода	Внутренние оболочки споры содержат большое количество липидов, которые придают ей свойство кислотоустойчивости



Споры малиновые, видны как эндоспоры внутри вегетативных клеток, так и отдельные споры

Вегетативные клетки синие

Спирохеты

Спирохеты (от лат. *spira* - завиток и *pen.chaetie* - хохол, грива) группа микроорганизмов спирально извитой формы. Отличаются от прочих бактерий по строению клетки и способу передвижения. Клетки довольно длинные (5 - 500 мкм), но тонкие (0,1-3 мкм), клеточная стенка очень гибкая.

Особенности спирохет:

- Извитая форма клеток
- Внутриклеточно расположенный аппарат движения
- Плохо окрашиваются по Граму (грам-отрицательные),
- по Романовскому-Гимзе - по-разному (в зависимости от рода)
- Исследуются при темнопольной и фазово-контрастной микроскопии
- **Заболевания:** сифилис, лептоспироз, эпидемический вшивый и эндемический клещевой возвратные тифы, болезнь Лайма и др.

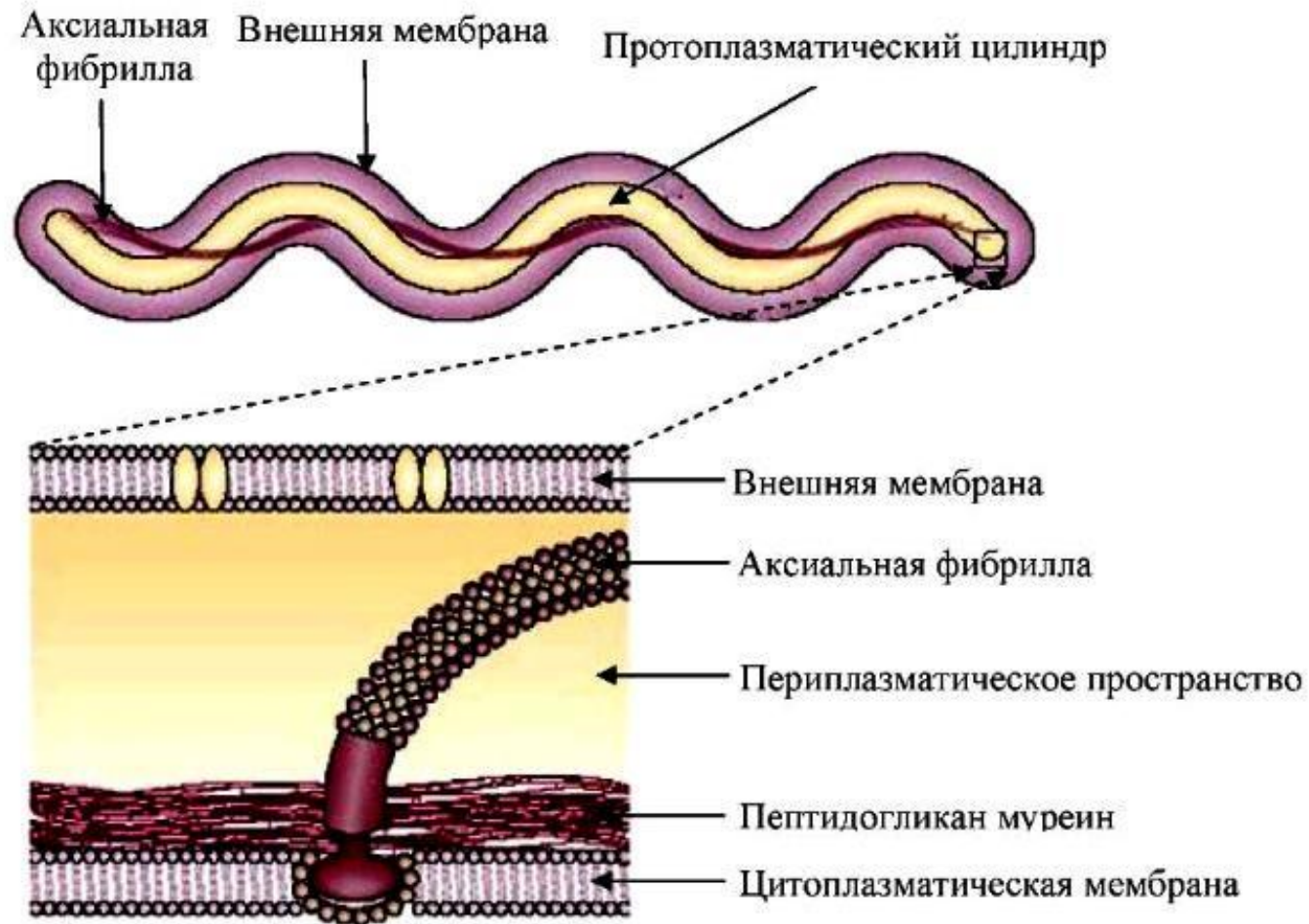
Особенности морфологии и ультраструктуры спирохет

Особенности ультраструктуры

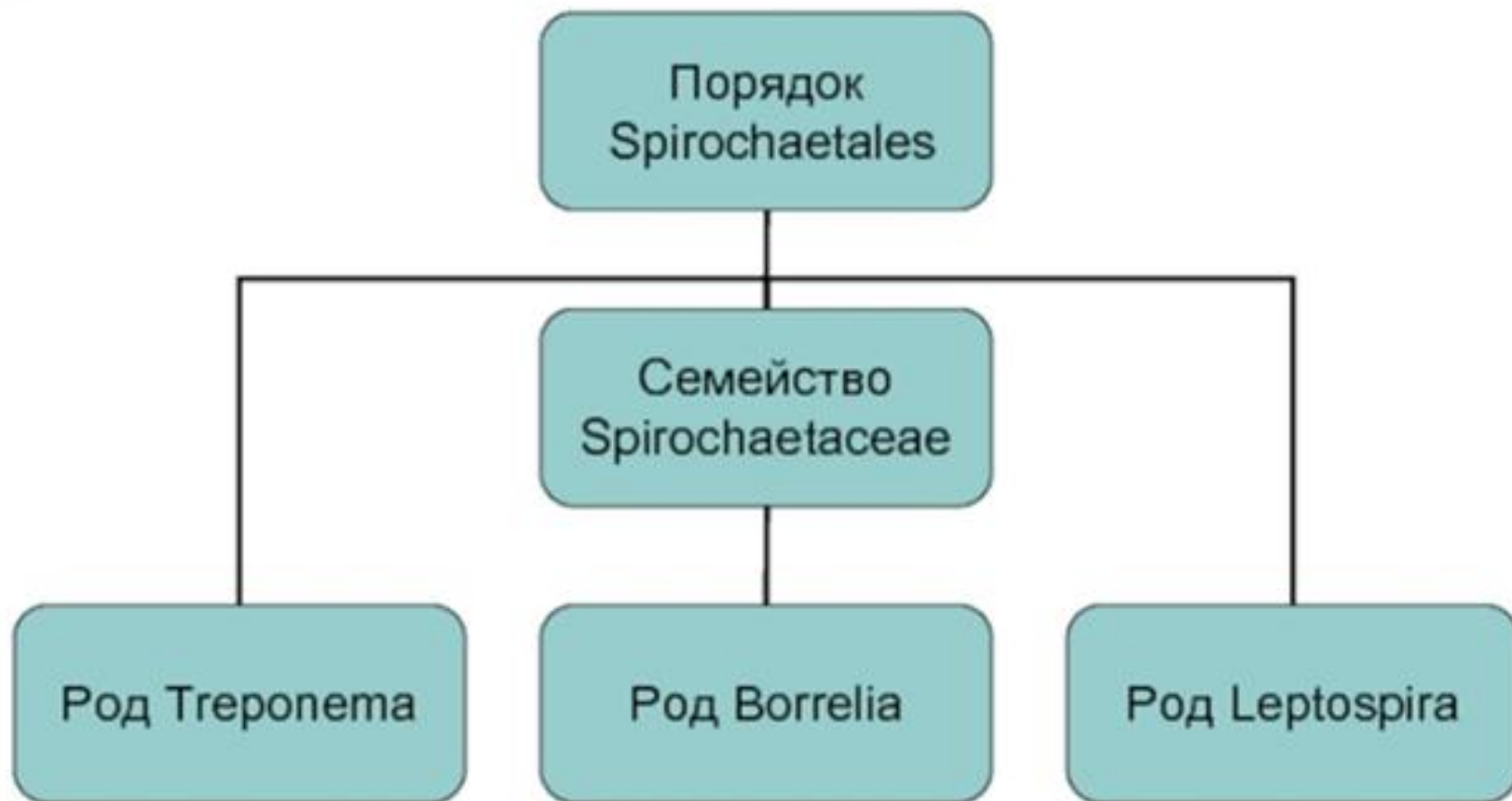
В периплазматическом пространстве клеточной стенки вдоль всего тела бактерий проходит осевая нить (аксиальная нить или фибрилла), состоящая – аналогично жгутику – из сократительного белка флагеллина и служащая органом движения. Поэтому спирохеты двигаются благодаря сокращению всего тела

Строение спирохет

Клетки состоят из протоплазматического цилиндра, переплетенного с одной или более осевыми фибриллами, отходящими от субтерминальных прикрепительных дисков, расположенных на концах цилиндра (что сближает их с простейшими).



Таксономия спирохет, имеющих клиническое значение

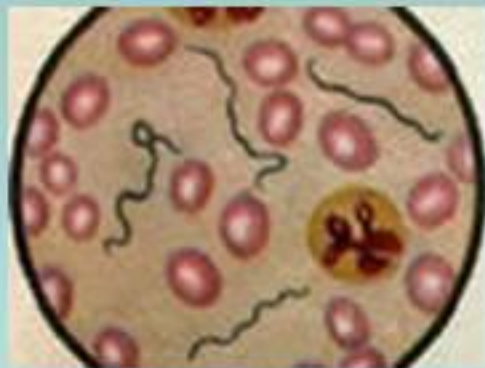


Морфологические признаки спирохет

Род	Количество и характер завитков	Характер движения	Окраска по методу Романовского-Гимзы
Borrelia	• 3-10 крупные неравномерные	• Толчкообразное, сгибательно-поступательное	• Сине-фиолетовая 
Treponema	• 8-12 мелкие равномерные	• Плавное, сгибательно-поступательное	• Бледно-розовая 
Leptospira	• Многочисленные первичные завитки, вторичные завитки образуют крючки с (s)-образная форма	• Очень активное, вращательно-поступательное	• Розово-сиреневая 

Спирохеты рода *Borrelia*

- 3–8 крупных завитков
- Концы клетки заострены
- Два пучка фибрилл, прикреплённых к дисковидным образованиям – блефаропластам, расположенным на обоих концах цитоплазматического цилиндра.



К ним относятся
возбудители возвратного
тифа - *B.recurrentis* и
болезни Лайма -
B.burgdorferi

Спирохеты рода *Treponema*

- имеют 8-12 равномерных мелких завитков.
- Два пучка фибрилл, прикрепленных к дисковидным образованиям – блефаропластам, расположенным на обоих концах цитоплазматического цилиндра.
- При длительном окрашивании по Романовскому-Гимзе приобретают бледно-розовый цвет.



T. pallidum - возбудитель
сифилиса

T. pertenue - возбудитель
тропической болезни -
фрамбезии.

Спирохеты рода *Leptospira*

- Первичные завитки - мелкие
- Вторичные завитки - крупные (в виде крючков) на полюсах клетки - форма буквы S или C
- Единичные фибриллы прикреплены на концах клетки



Патогенный представитель
L.interrogans вызывает
лептоспироз.

Методы выявления спирохет

- В нативных (неокрашенных) препаратах – по подвижности.
- Негативная окраска по Бурри.
- Импрегнация солями тяжёлых металлов – серебрение по Морозову.
- Окраска по Романовскому- Гимзе.
- Окраска по Граму. Все спирохеты грамотрицательны.

Риккетсии

- **Риккетсии** - мелкие внутриклеточные бактерии. По морфологии аналогичны грамотрицательным бактериям, но не размножаются на искусственных питательных средах (на бесклеточных питательных средах). Для их размножения необходима живая клетка, этим они напоминают вирусы.
- Впервые описал возбудителя в 1909 году американский ученый Говард Тэйлор Риккетс.

Эубактерии с тонкой клеточной стенкой

альфа-протеобактерии

гамма-протеобактерии

порядок Rickettsiales

порядок Legionellales

семейство Bartonellaceae

семейство Ehrlichiaceae

семейство Rickettsiaceae

семейство Coxiellaceae

род Bartonella

род Ehrlichia

род Orientia

род Rickettsia

род Coxiella

виды:
B. bacilliformis
B. quintana
B. henselae
B. chlaridgeae
B. elizabethae

группа E. canis
вид E. chaffeensis
группа E. sennetsu
вид E. sennetsu
группа
E. phagocytophila
виды: E. equilike
(E. phagocytophila)

вид
O. tsutsugamushi
(6 сероваров)

группа сыпного
тифа
виды:
R. prowazekii
R. typhi
R. felis

группа клещевых
риккетсиозов
виды:
R. rickettsii
R. conorii
R. australis
R. akari
R. sibirica
R. japonica
R. honei

Рис. 3.110. Риккетсии, ориентииа и эрлихии, а также «бешеные» риккетсии (коксиеллы и бартонеллы), патогенные для человека. Составлено с учетом работы А. А. Воробьева, Е. П. Лукина, А. С. Баксова (2001 г) и по Руководству Бердана (2001 г)

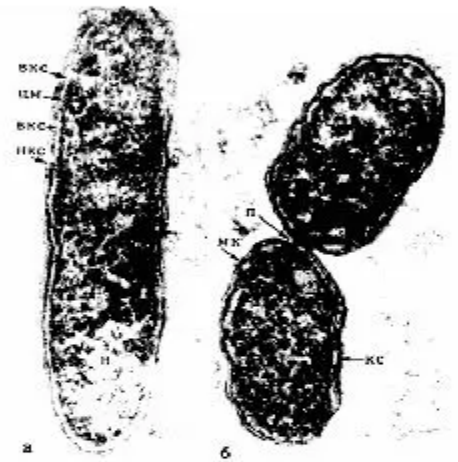
Таксономия риккетсий

Сходство риккетсий с бактериями:

- наличие ДНК и РНК;
- строение клеточной стенки;
- размножение бинарным делением (удваиваются только через 8-12 часов).

Сходство риккетсий с вирусами:

- облигатные внутриклеточные паразиты
- не способны к росту на питательных средах
- очень мелкие размеры



Особые свойства всех риккетсий:

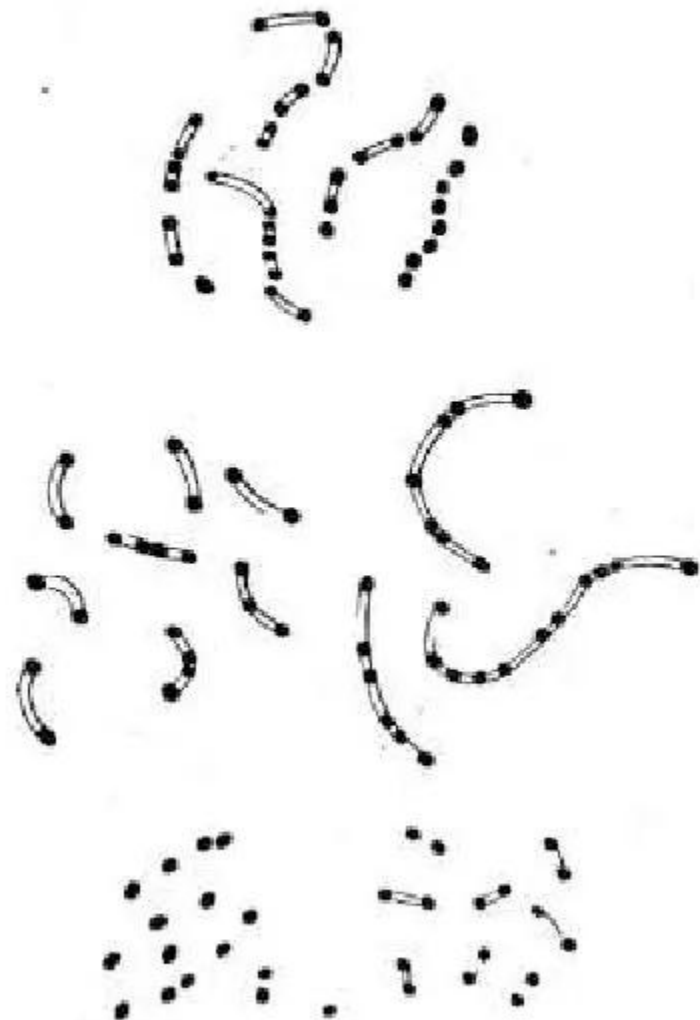
- Экология - паразитизм в членистоногих (клещи, вши, блохи)
- В организме размножаются в эндотелии сосудов, особенно мелких (в ЦНС и др. локализации)

Риккетсии - это бактерии, но тоже очень своеобразные.

Риккетсии

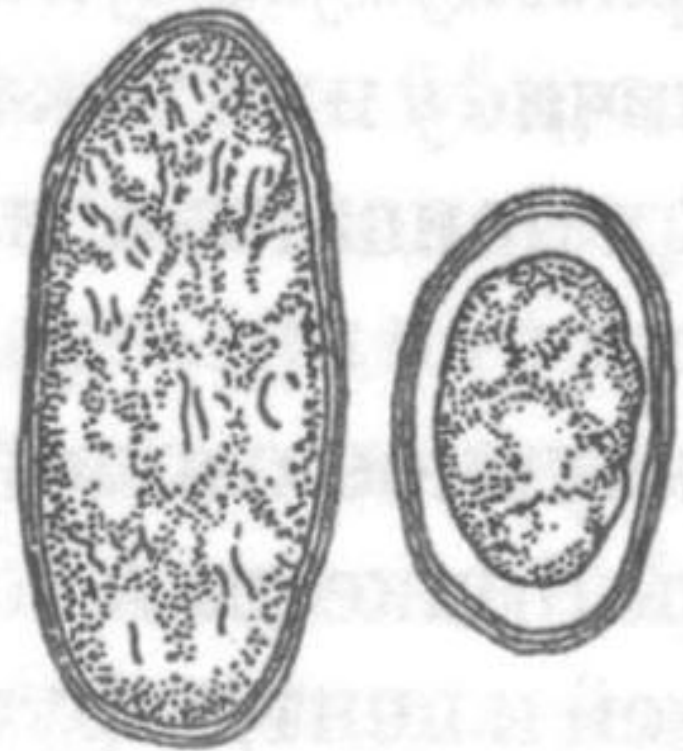
■ Риккетсии – полиморфные микроорганизмы:

- кокковидные – до 0,1 мкм;
- короткие палочковидные – до 1-1,5 мкм
- длинные палочковидные, или бациллярные – до 3-4 мкм;
- нитевидные или мицеллярные формы – до 10 и даже 40 мкм.



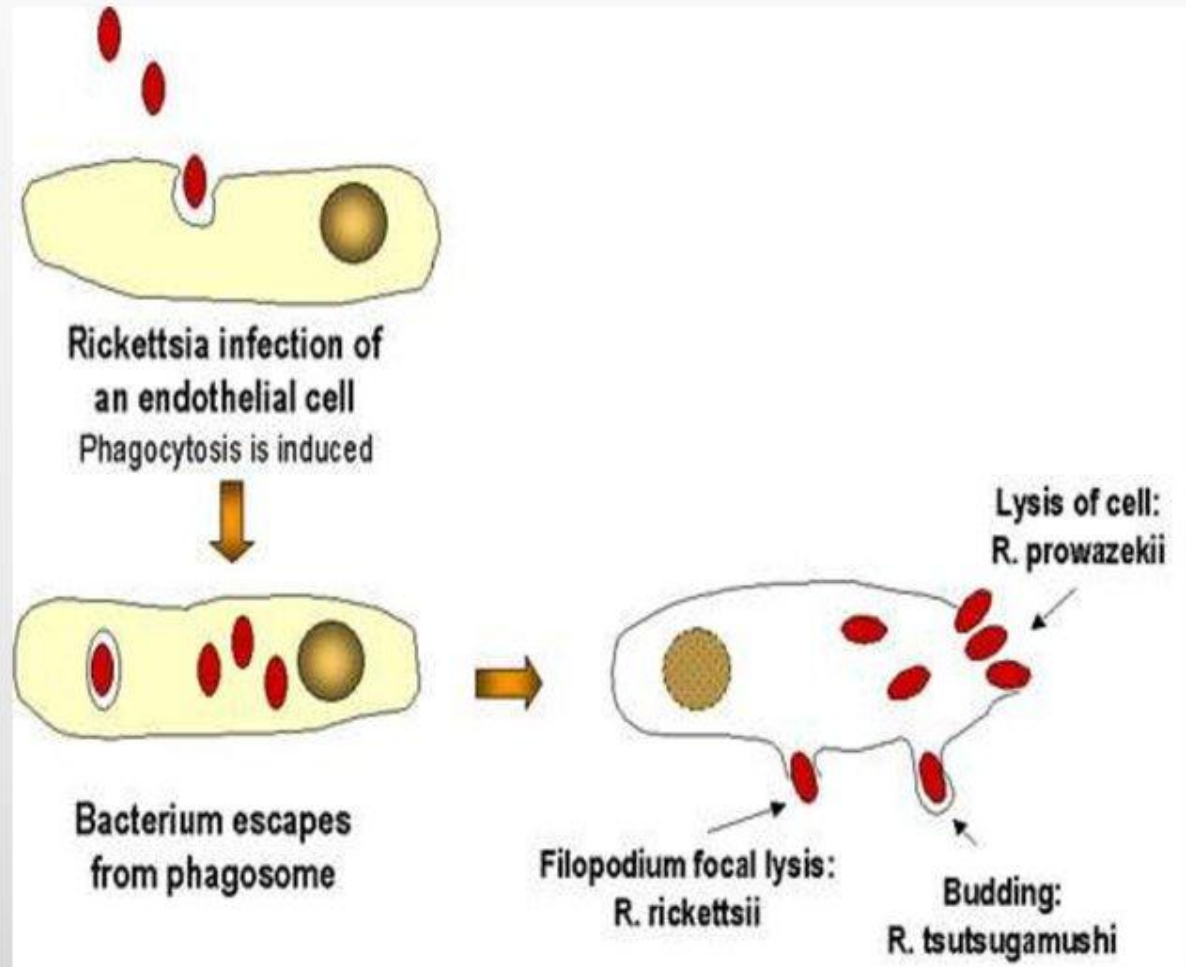
Формы риккетсий

- **Вегетативные формы** риккетсий способны к размножению, внутриклеточные формы.
- **Покоящиеся формы** обеспечивают сохранение во внешней среде, благодаря повышенной устойчивости, и проникновение в чувствительную клетку. Покоящиеся формы менее полиморфны, они обычно сферичны или овальны и мельче вегетативных форм.



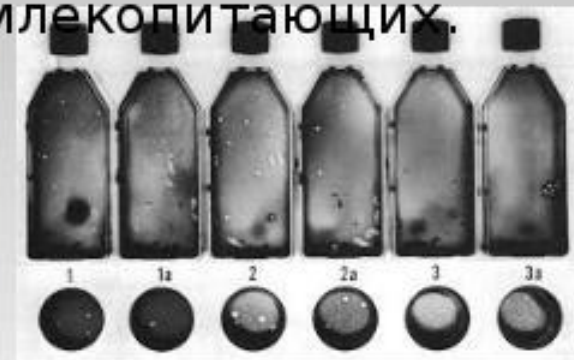
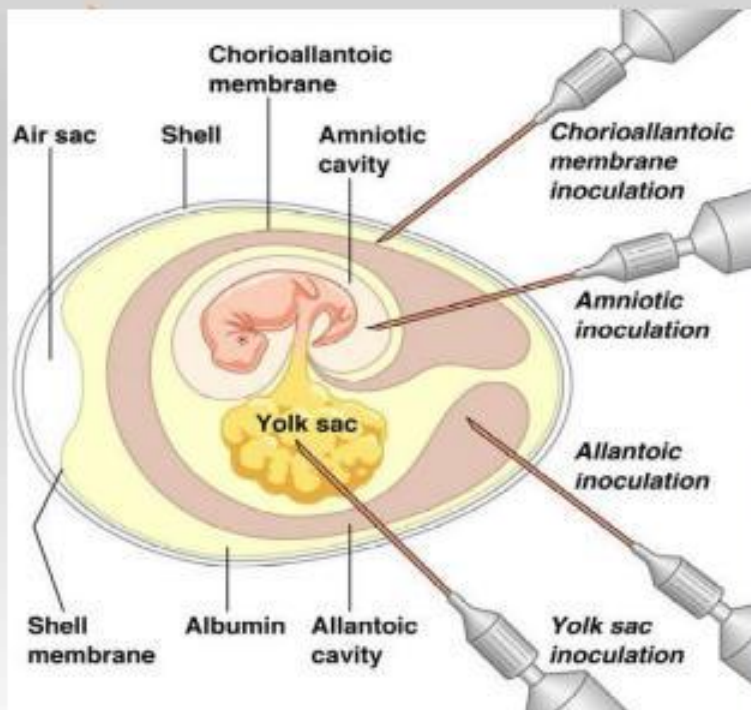
Жизненный цикл риккетсий

- Адсорбция;
- проникновение в клетку путем эндоцитоза;
- выход в цитоплазму;
- переход в вегетативную форму и размножение;
- превращение в покоящуюся форму и дегенерация клетки-хозяина;
- выход риккетсий из погибшей клетки.



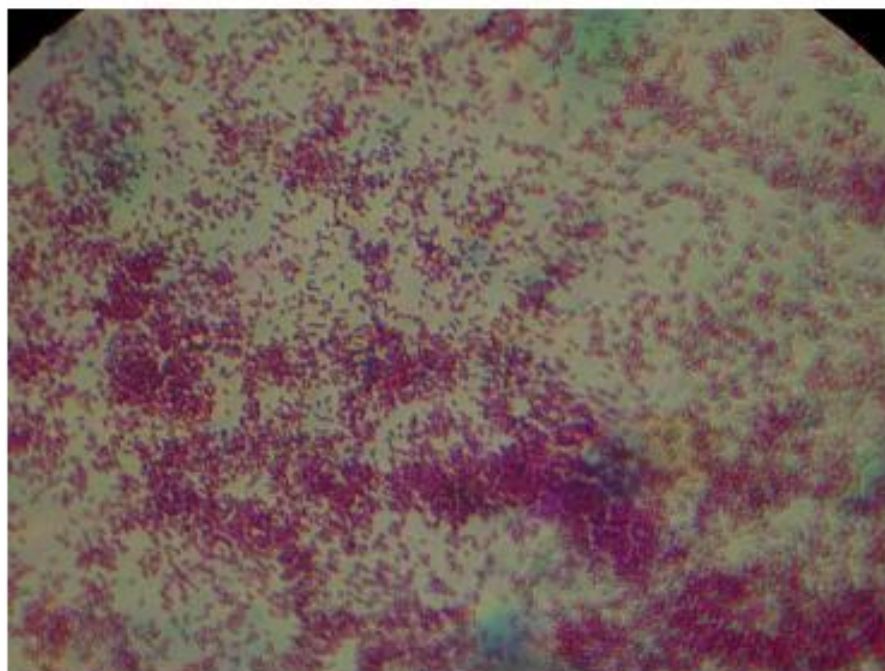
Культивирование риккетсий

- ▶ Риккетсии не растут на классических питательных средах, их культивируют
- ▶ в желточном мешке куриного эмбриона
- ▶ и в некоторых линиях клеток членистоногих или млекопитающих.



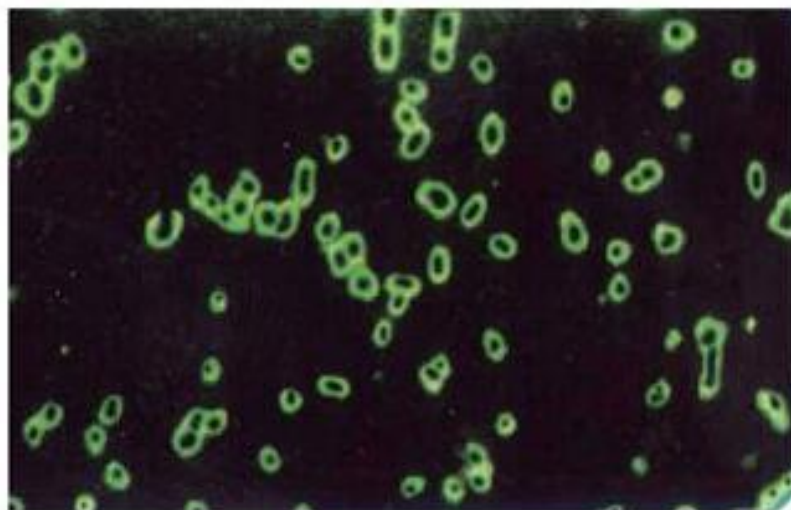
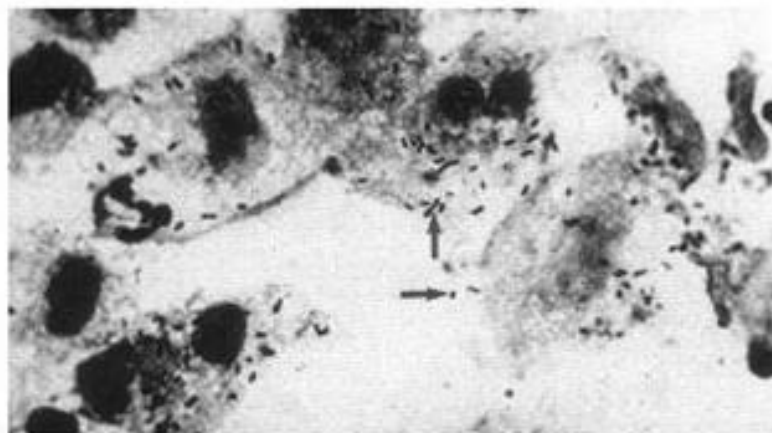
Методы выявления

- По **Граму** –
грамотрицательные.
- По **Романовскому-Гимзе** кокковидные формы риккетсий окрашиваются в розовато-красный цвет, а палочковидные приобретают голубоватый оттенок.



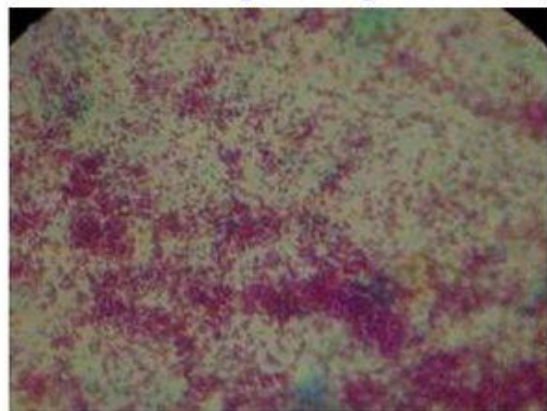
Методы выявления

- Риккетсии можно выявлять в нативном виде в фазово-контрастном микроскопе.
- Люминесцентная микроскопия.

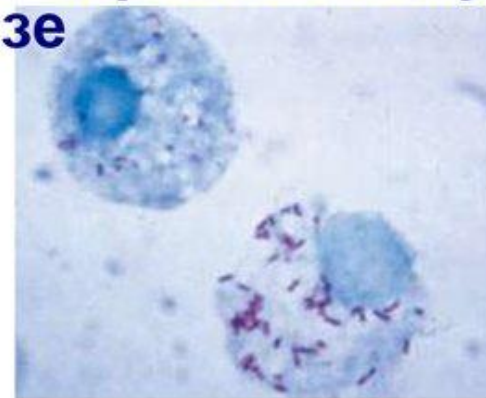


Тинкториальные свойства

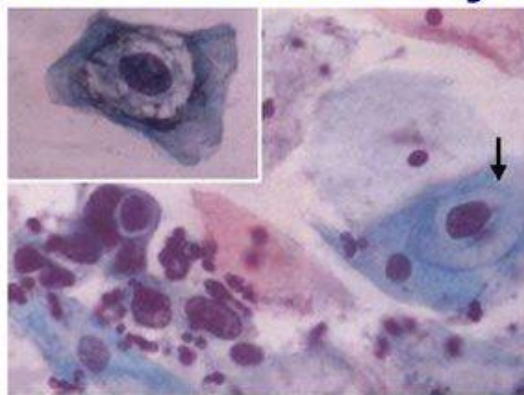
По Граму



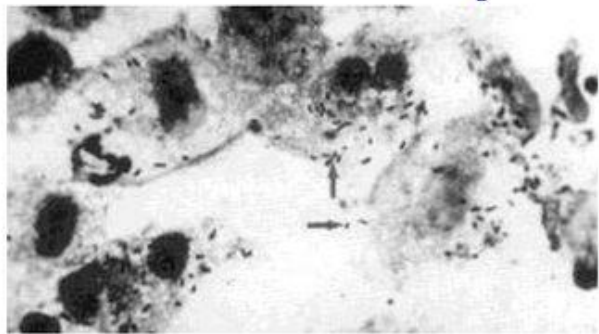
По Здродовскому



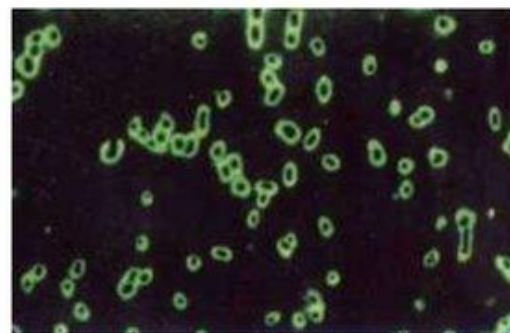
По Романовскому-Гимзе



Фазовый контраст



РИФ



Патогенные риккетсии

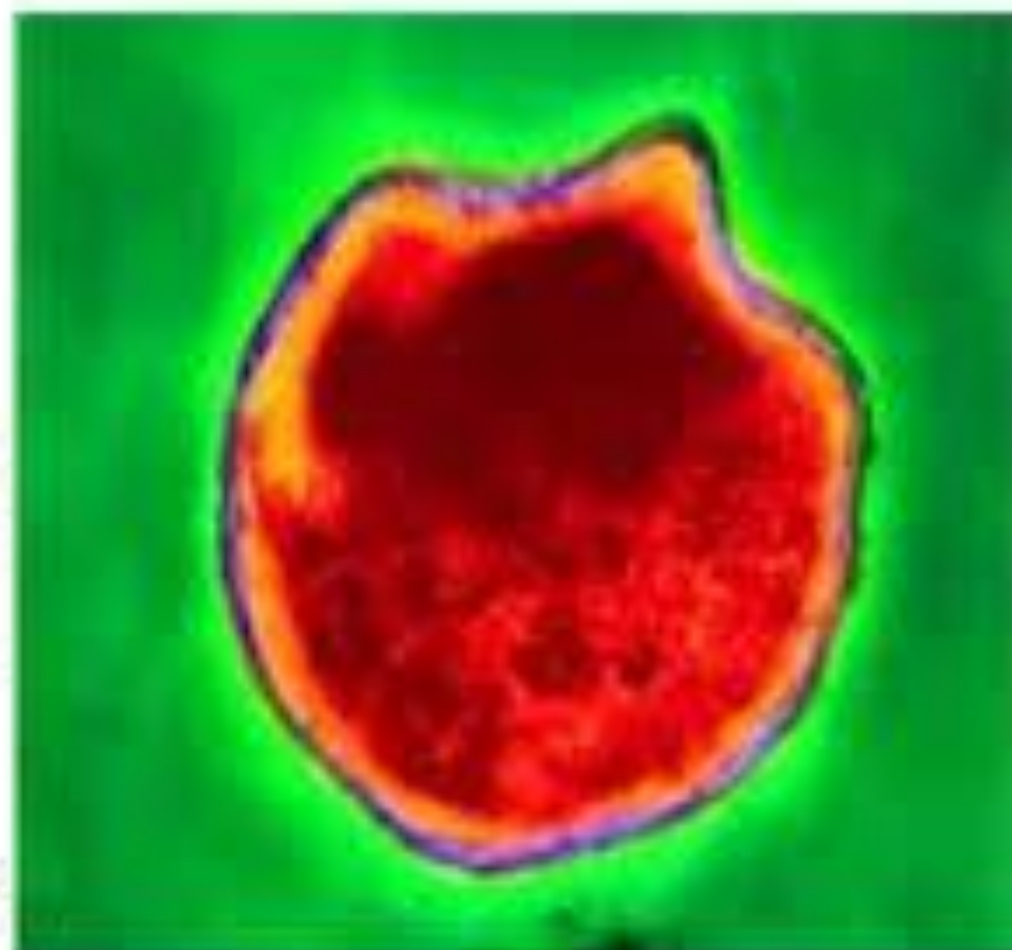
- **Риккетсии** у человека вызывают сыпной тиф (*Rickettsia prowazekii*), клещевой риккетсиоз (*R. sibirica*) и др.
- **Ориенции** вызывают лихорадку цуцугамуши (*O. tsutsugamushi*).
- **Эрлихии и анаплазмы** эрлихиозы человека (*Ehrlichia chaffeensis*, *A. phagocytophilum*).
- **Коксиеллы** (*C. burnetii*) вызывают лихорадку Ку.



Хламидии

Хламидии

облигатные
внутриклеточные
паразиты
млекопитающих и
птиц со сложным
циклом развития.
Это
грамотрицательные
бактерии, имеющие
форму кокков.



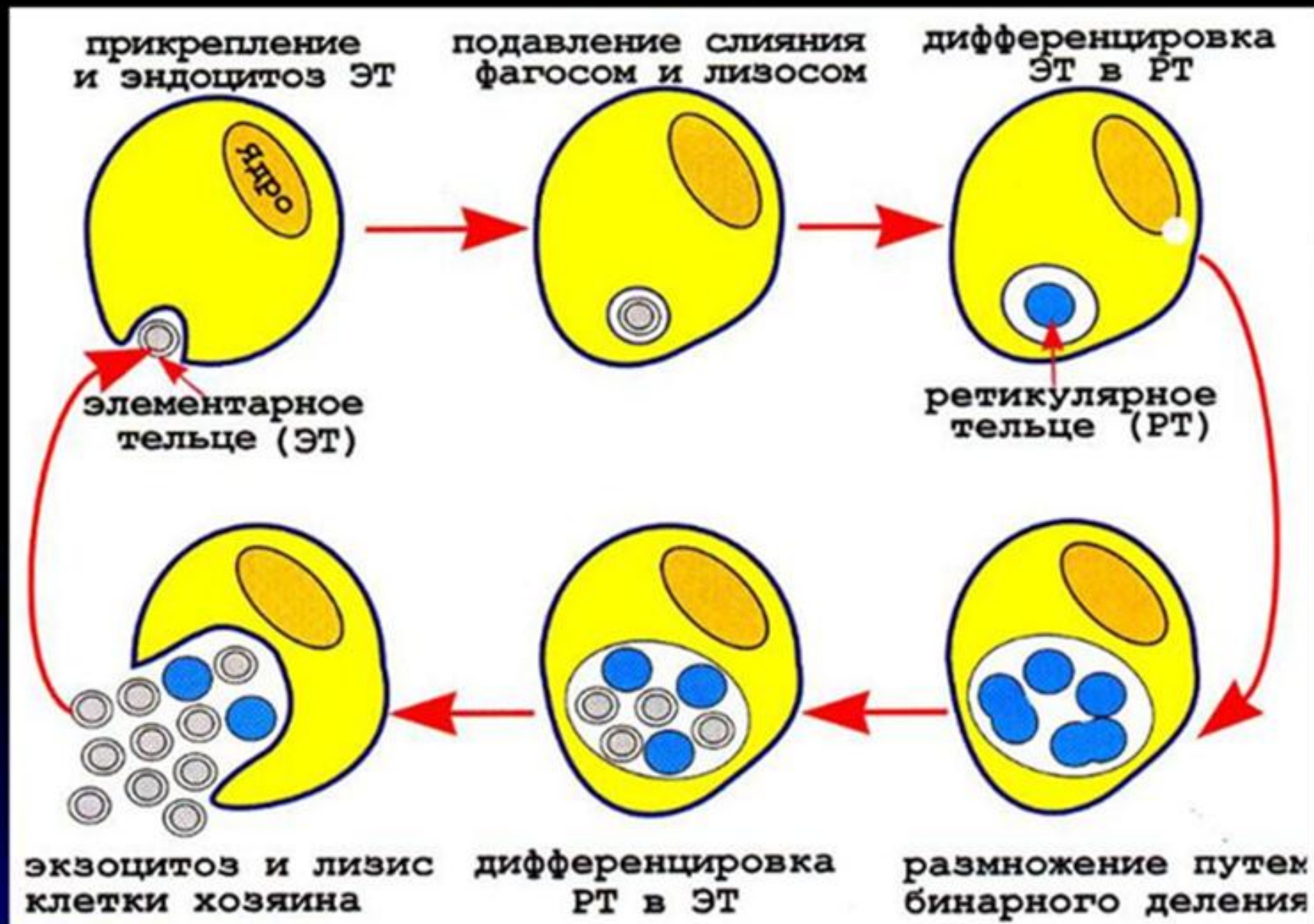
Морфология хламидий

- Хламидии – мелкие грамотрицательные прокариоты шаровидной или овоидной формы, не образуют спор, неподвижны, не имеют капсулы. В составе клеточной стенки отсутствует пептидогликан, ригидные функции выполняют белки наружной мембраны. Хламидии существуют в двух формах:
- Элементарное тельце (0,2-0,3 мкм) – внеклеточная инфекционная форма хламидий, ответственное за процесс прикрепления к клетке-мишени и проникновение в них.
- Ретикулярное тельце (0,8-1,5 мкм)- внутриклеточная метаболически активная форма

Жизненный цикл хламидий – (продолжительность 48-72 часа)

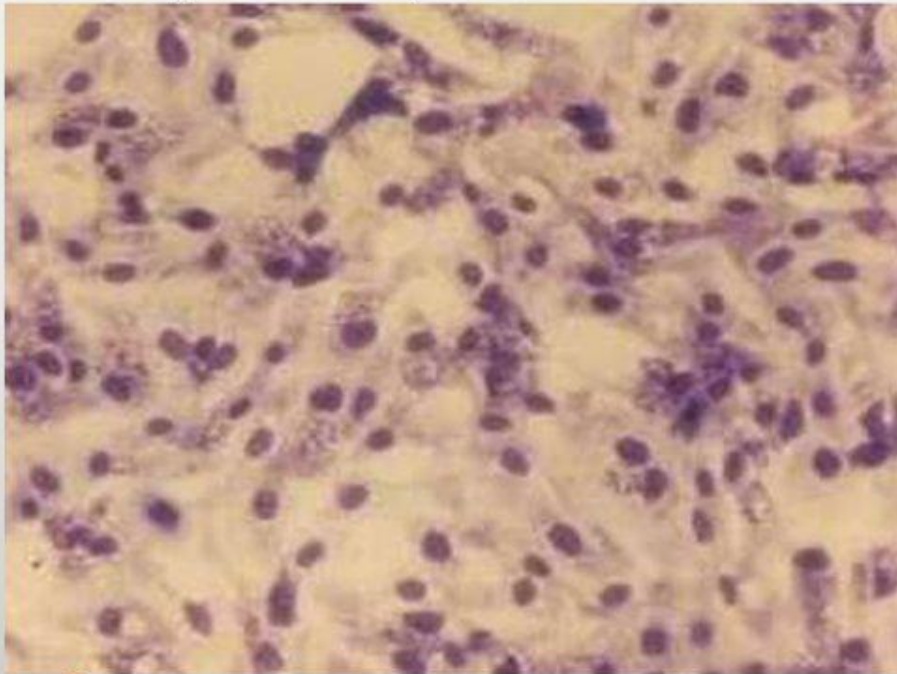
- 1.Адсорбция ЭТ на мембране клетки мишени и внедрение по типу эндоцитоза с образованием фагоцитарной вакуоли (7-10 часов).
- 2.Преобразование ЭТ в более крупное РТ, которое многократно делится бинарно, образуя хламедийные включения, окруженные мембраной клетки-хозяина (18-24 часа).
- 3.Созревание хламидий – образование промежуточных телец и трансформация РТ в ЭТ (36-42 часа).
- 4.Выход ЭТ из разрушенной клетки.
- 5.Проникновение ЭТ в новые клетки и начало нового цикла развития

ЦИКЛ РАЗВИТИЯ ХЛАМИДИЙ (17-40 часов)



Культивирование хламидий

- ❑ Хламидии являются облигатными внутриклеточными энергетическими паразитами, поэтому не растут на искусственных питательных средах.
- ❑ Элементарные тельца используют в качестве источника энергии глюкоза-6-фосфат, высвобождающийся из разрушенных клеток, а ретикулярные тельца напрямую потребляют АТФ клетки-хозяина.
- ❑ Хламидии культивируют в культуре клеток HeLa, McCoу и в желточных мешках куриных эмбрионов.



Однослойная культура клеток после инкубирования в присутствии *Chlamydia trachomatis*. Цитоплазма инфицированных клеток выглядит «гранулированной».

Классификация

Порядок – Chlamydiales
Семейство – Chlamydaceae

Род – Chlamydia

Вид – C. trachomatis

Род – Chlamidophila

Виды – C. psittaci

C. pneumoniae

Патогенные хламидии

- Род *Chlamydia* включает патогенный для человека вид: ***Chlamydia trachomatis*** (вызывает трахому, урогенитальные заболевания, некоторые формы артрита, конъюнктивит и пневмонию новорожденных).
- Род *Chlamydophila* включает в себя патогенные для человека виды – ***Chlamydophila psittaci*** (способны вызывать заболевания у птиц, передаются человеку и вызывают пситтакоз) и ***Chlamydophila pneumoniae*** (возбудитель респираторных инфекций у животных и человека, способны вызывать преимущественно острые или хронические бронхиты и пневмонии).

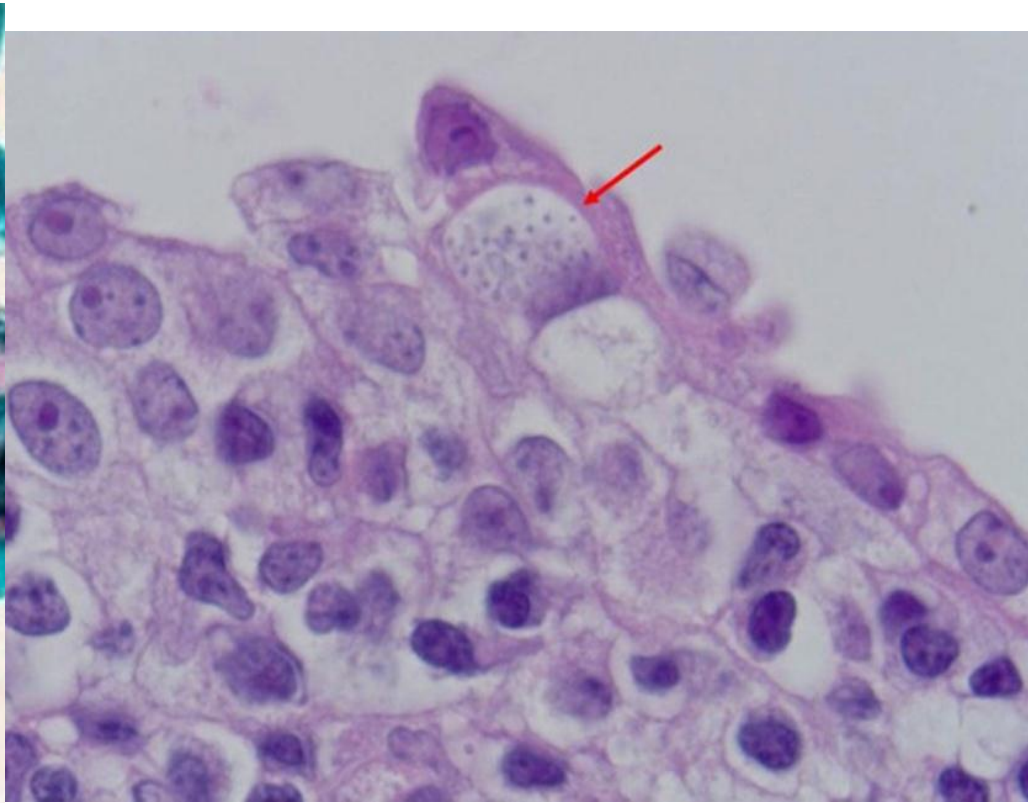
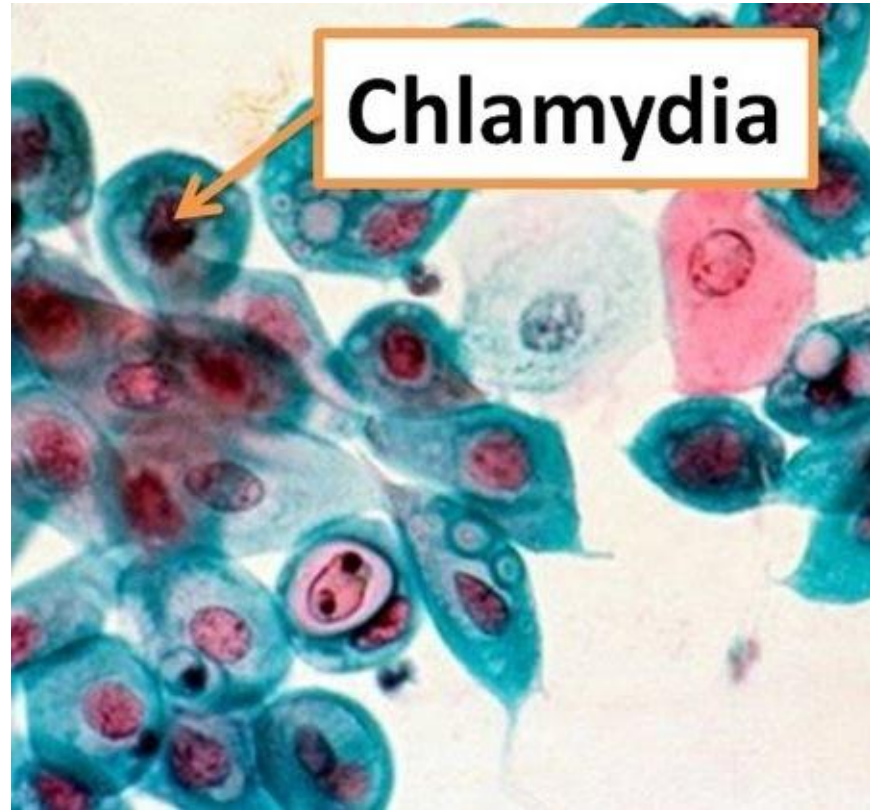
Методы изучения хламидий

Хламидии окрашиваются по методу Романовского-Гимзы. Цвет окраски зависит от стадии жизненного цикла:

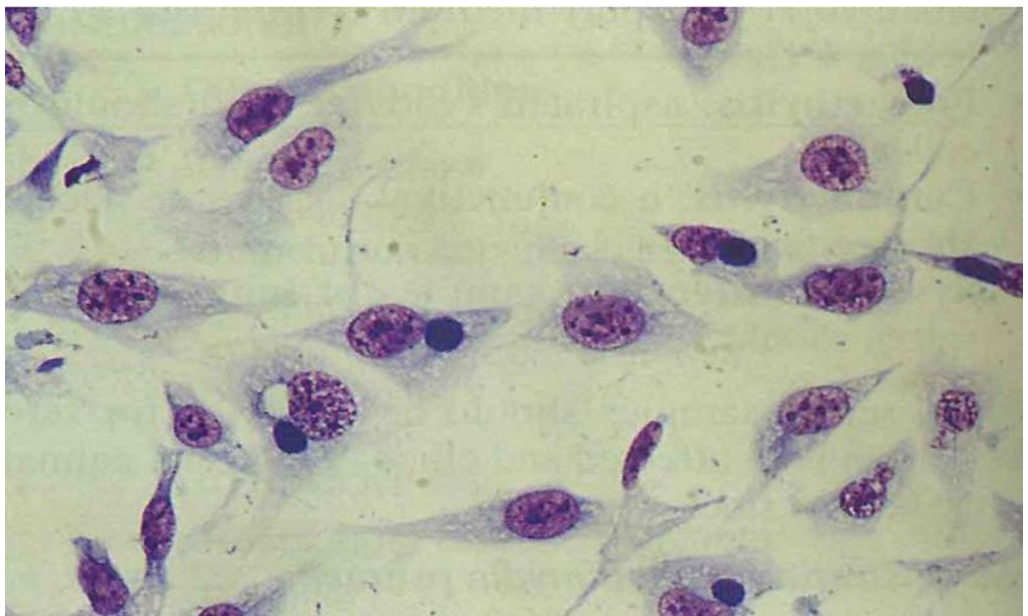
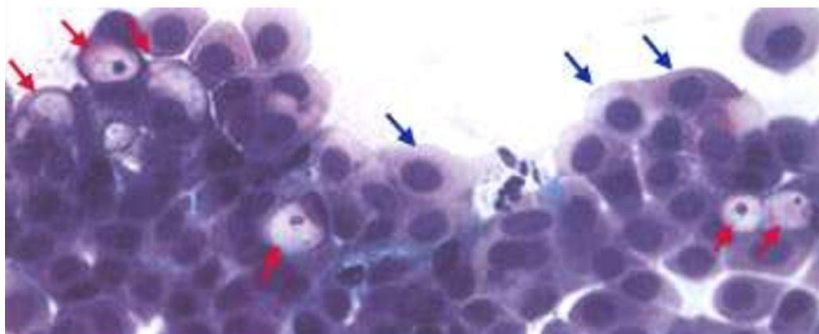
ЭТ окрашивается в пурпурный цвет и четко выделяется на голубом фоне цитоплазмы клетки-мишени,

РТ окрашивается в голубой цвет.

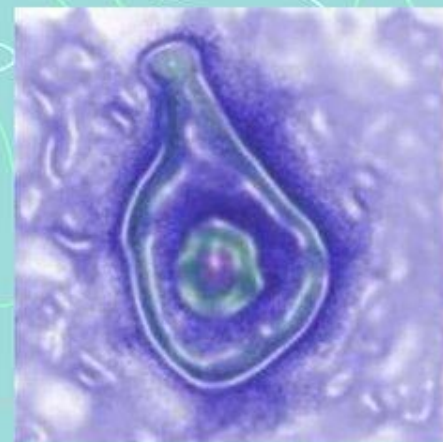
Chlamydia



Призматический эпителий канала шейки матки, поражённый хламидиями. Синими стрелками обозначены "здоровые" клетки, красными - клетки, в которых размножаются хламидии.



Микоплазмы – это мельчайшие, наиболее просто организованные прокариотические организмы, способные к самостоятельному воспроизведению; Главная морфологическая особенность – **отсутствие клеточной стенки**, как следствие – полиморфизм

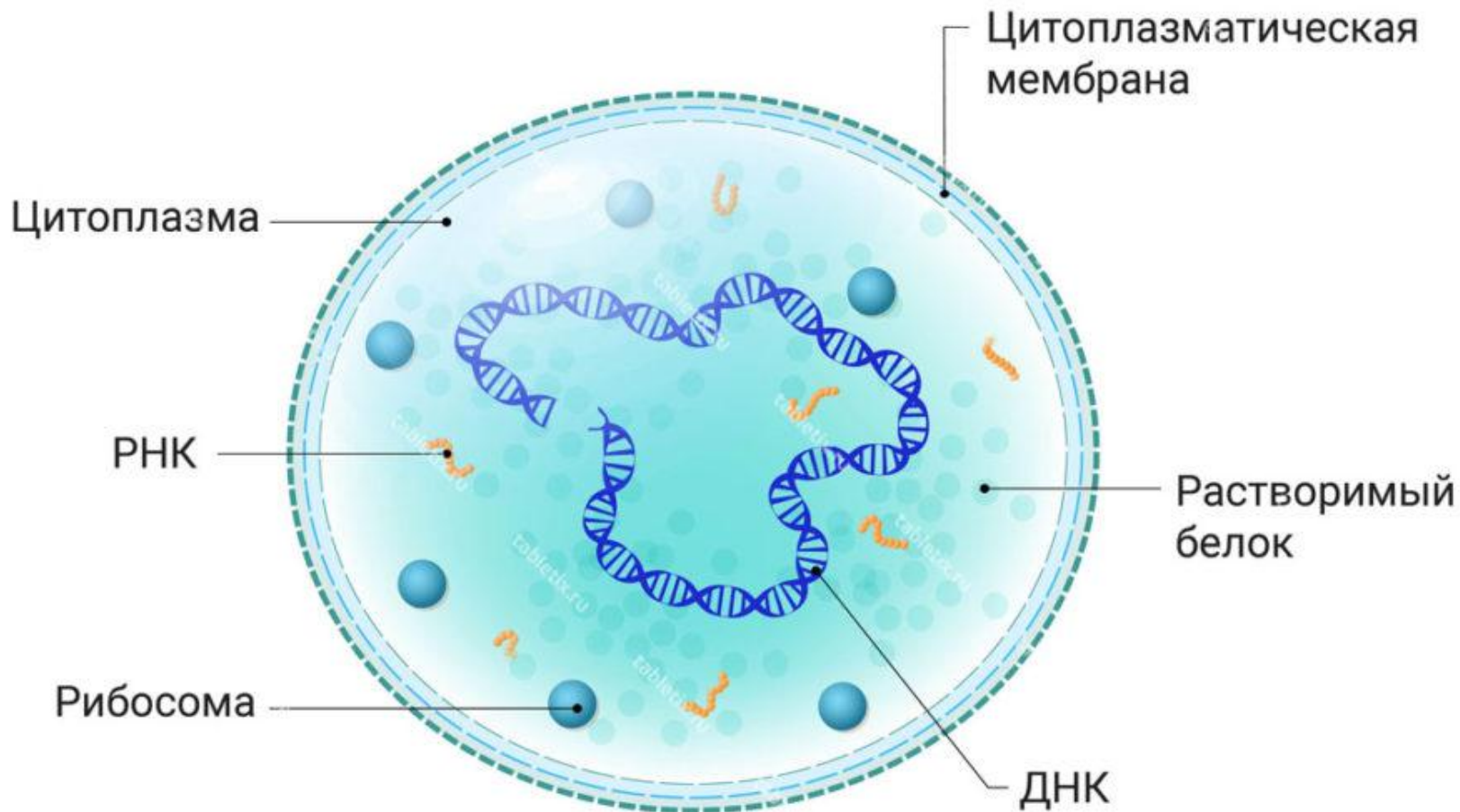


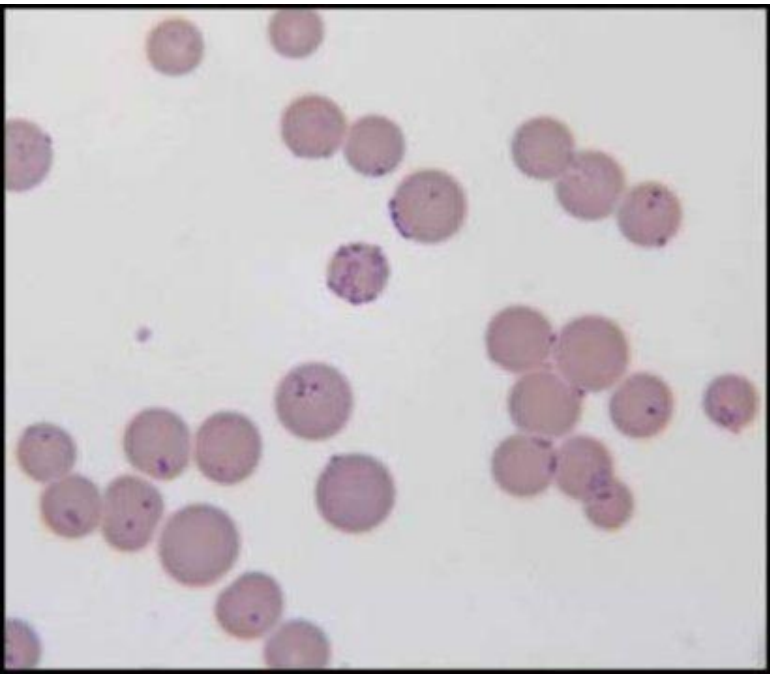
МОРФОЛОГИЯ МИКОПЛАЗМ

- Клетки плеоморфные, от сферических, слегка овальных или грушевидных (0,3-0,8 мкм) до тонких разветвленных нитей, варьирующих по длине от нескольких до 150 мкм.
- Клетки лишены клеточной стенки и окружены только трехслойной цитоплазматической мембраной, что и обуславливает характерные для них биологические свойства.
- Грамотрицательны. Покоящиеся стадии неизвестны. Как правило, неподвижные, но у некоторых видов описано скользящее движение.

Строение микоплазмы

Бактерия не имеет жесткой клеточной стенки



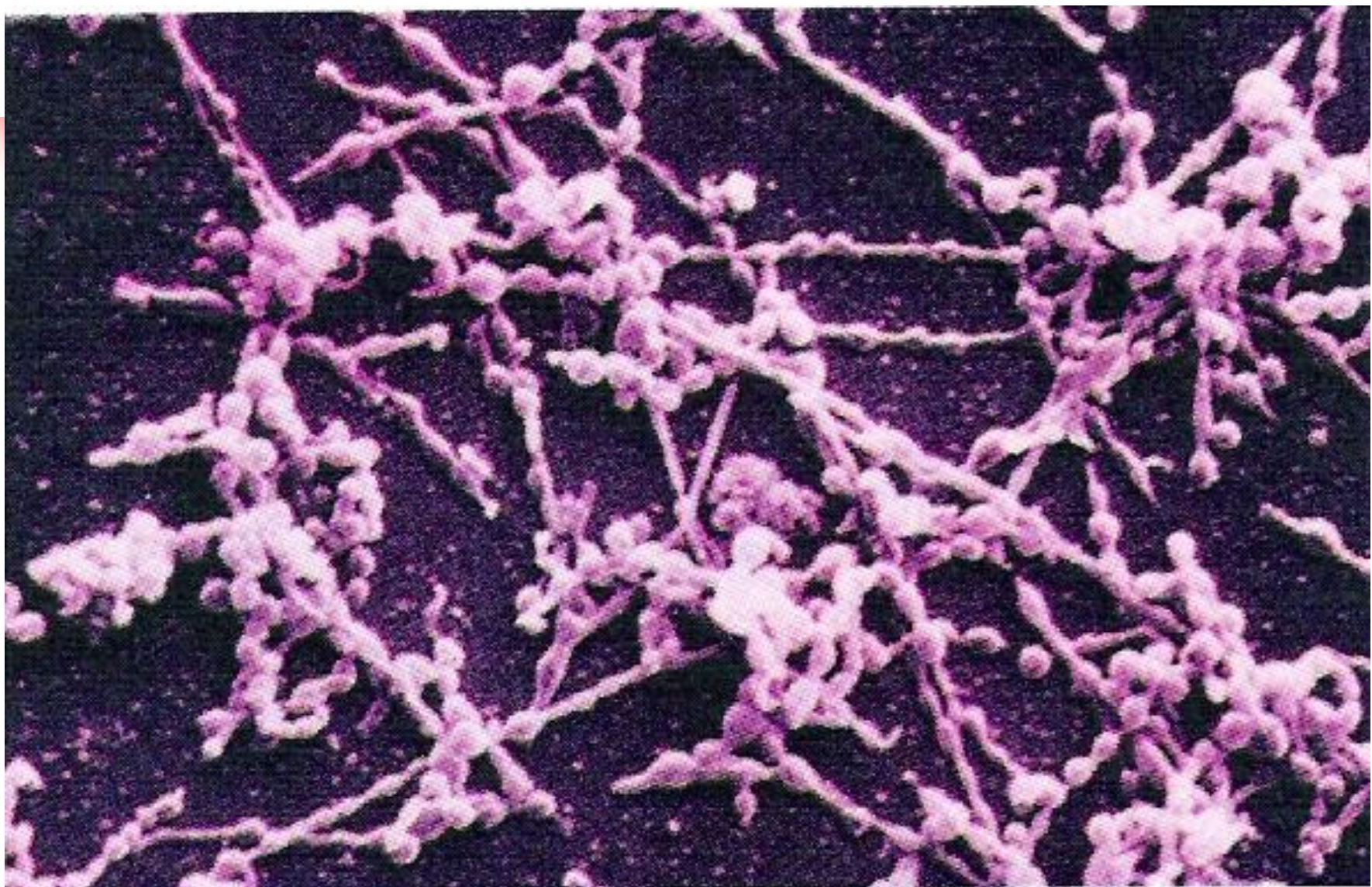


Микоплазмы (Tenericutes, тенерикуты)

Микроорганизмы, лишенные клеточной стенки – снаружи имеют цпм, содержащую стеролы (поэтому для культивирования в питательную среду добавляют сыворотку – источник стеролов). Не окрашиваются по Граму, резистентны к действию антибиотиков, которые подавляют синтез клеточной стенки.

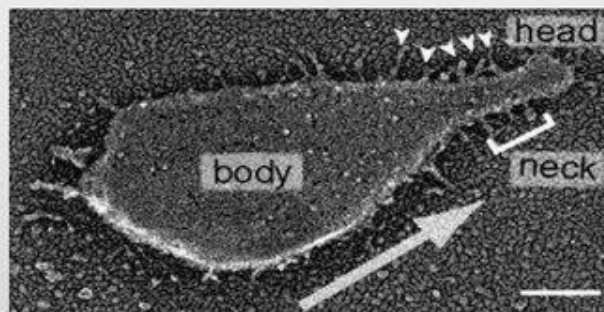
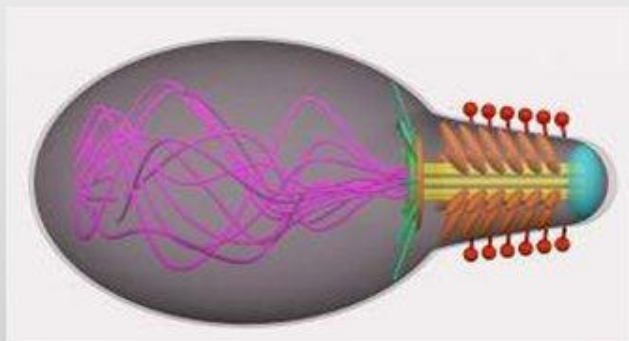
- малые размеры жизнеспособных частиц, близкие к размерам вирусов;
- отсутствие ригидной клеточной стенки;
- содержание в клетках ДНК и РНК, в отличие от вирусов, имеющих одну из кислот;
- способность расти на бесклеточных питательных средах;
- размножение путем бинарного деления, как и у других бактерий;
- полиморфизм клеток — кроме обычных овоидных клеток имеются нитевидные, звездчатые, почкующиеся формы;
- на плотных средах колонии микоплазм имеют вросший в среду центр и ажурную периферию,
- в организме прикрепляются к мембране клетки (мембранные паразиты)

Микоплазмы

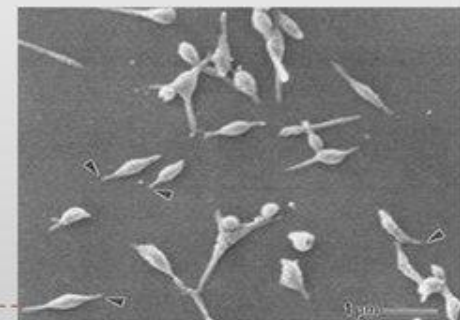


Микоплазмы

- ❑ Единственной поверхностной оболочкой микоплазм является цитоплазматическая мембрана, в большинстве случаев содержащая экзогенный холестерин эукариотического происхождения.
- ❑ Для микоплазм характерен значительный полиморфизм с образованием округлых и нитчатых форм, однако наиболее часто встречаются грушевидные или веретеновидные клетки.
- ❑ Это обуславливается наличием терминальной органеллы – выроста мембраны, укрепленного сложным белковым аппаратом.
- ❑ Терминальная органелла используется для адгезии, а также для особого вида подвижности – скольжения по различным поверхностям.

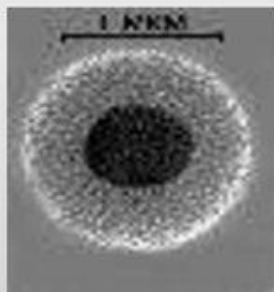


Сканирующая электронная
микрофотография
движущейся микоплазмы

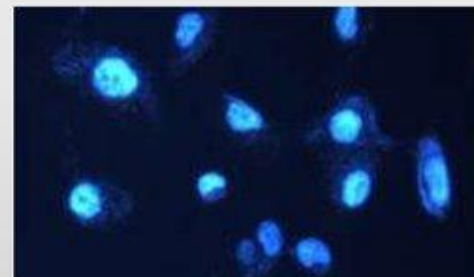


Микоплазмы

- ▶ В связи с морфологическими особенностями микоплазмы не удается окрашивать анилиновыми красителями, и их изучают в нативных препаратах в фазово-контрастном микроскопе.
- ▶ Для выявления микоплазм в культуре зараженных клеток активно применяются красители, образующие флуоресцентные комплексы с ДНК, например, 4',6-диамидино -2-фенилиндол (DAPI).
- ▶ При культивировании микоплазмы даже при использовании самых богатых питательных сред растут очень медленно (видимый рост через 2-4 недели), колонии на твердой питательной среде имеют характерный вид: их центральная зона утолщена и проникает вглубь агара, а периферическая часть тонкая и расположена на поверхности.



Колонии микоплазм



Культура клеток,
инфицированных
микоплазмами

Таксономия микоплазм

Taxonomy

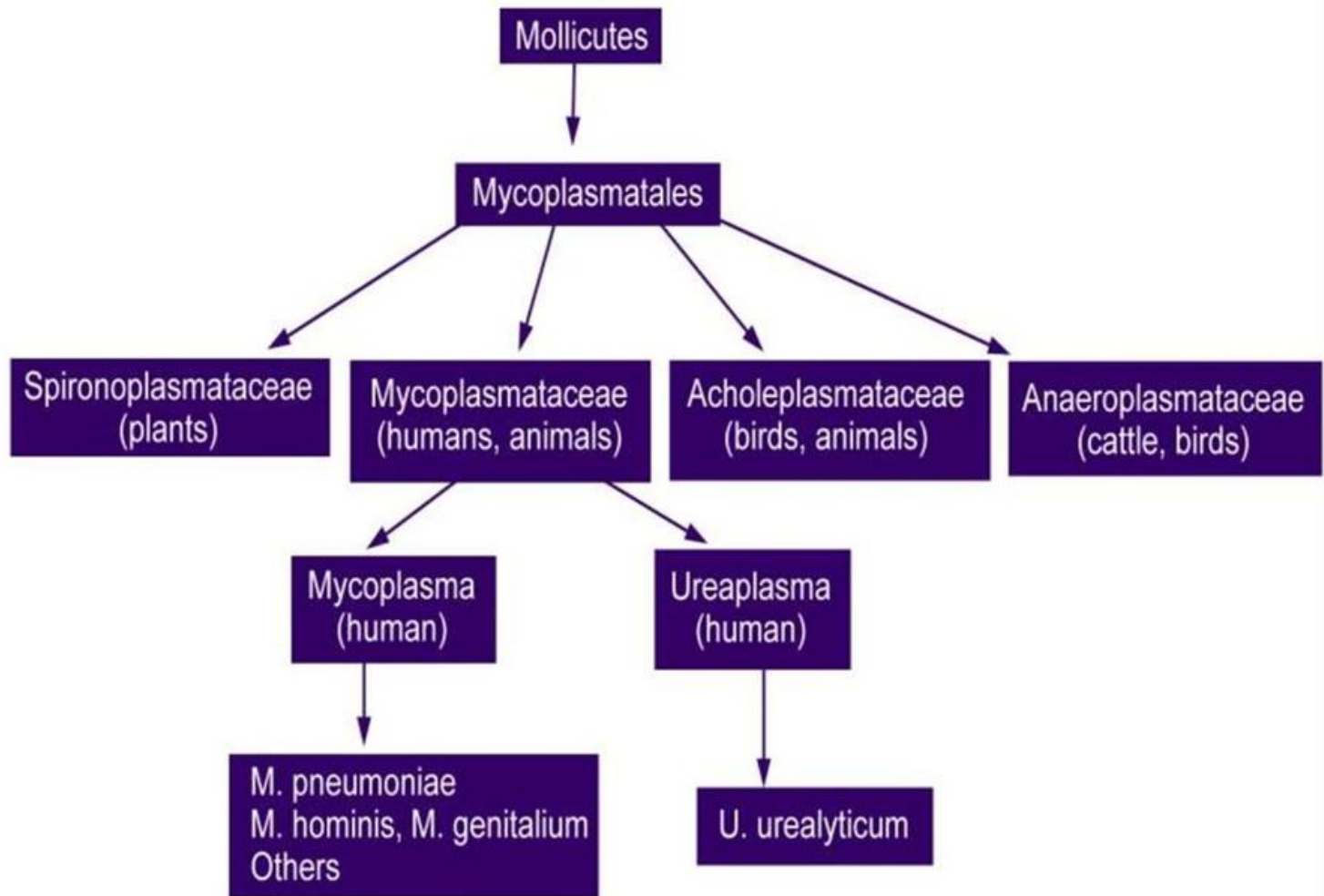
Class

Order

Family

Genus

Species

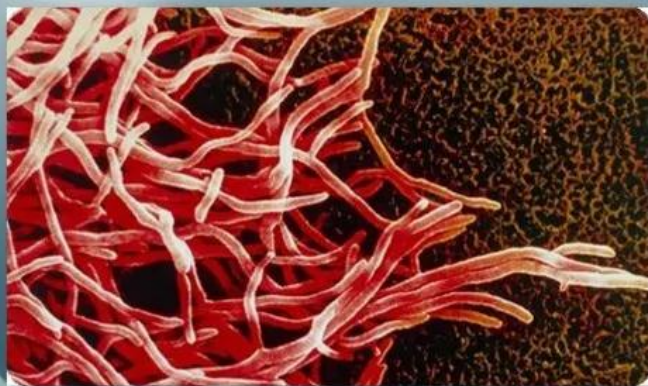


История открытия: 1993-1898 г.г. – Нокар, Ру, Боррель выделили возбудителя плевропневмонии коров.

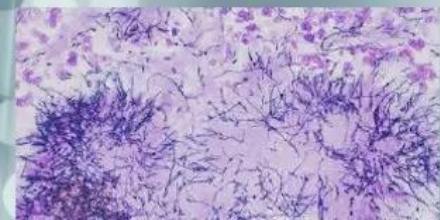
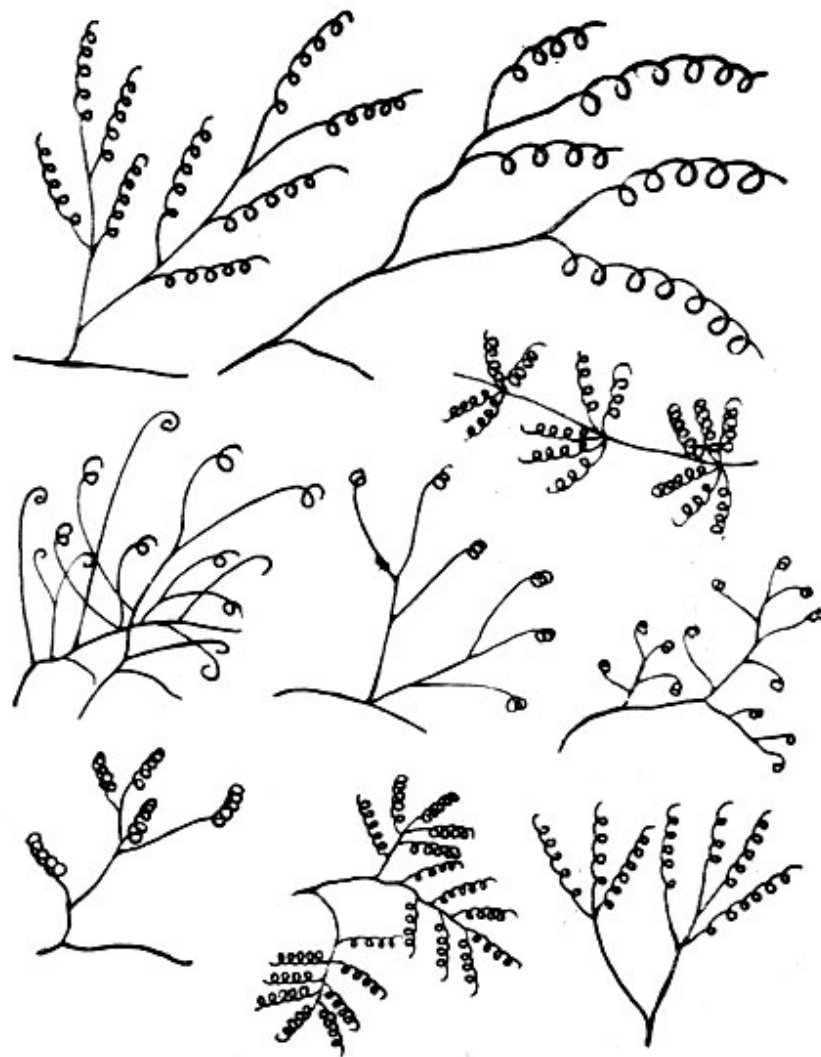
Патогенные представители родов *Mycoplasma* и *Ureaplasma*

Вид	Болезнь
<i>M.pneumoniae</i>	Воспаление верхних дыхательных путей, трахеобронхит, атипичная пневмония
<i>M.hominis</i>	Пиелонефрит, воспалительные заболевания тазовых органов, послеродовая лихорадка, пороки развития
<i>M.genitalium</i>	Негонококковый уретрит (урогенитальный микоплазмоз)
<i>M.fermentans</i>	Воспалительные заболевания респираторного тракта, ревматоидный артрит
<i>U.urealyticum</i>	Негонококковый уретрит, хронические заболевания лёгких, врождённые пневмонии, бесплодие

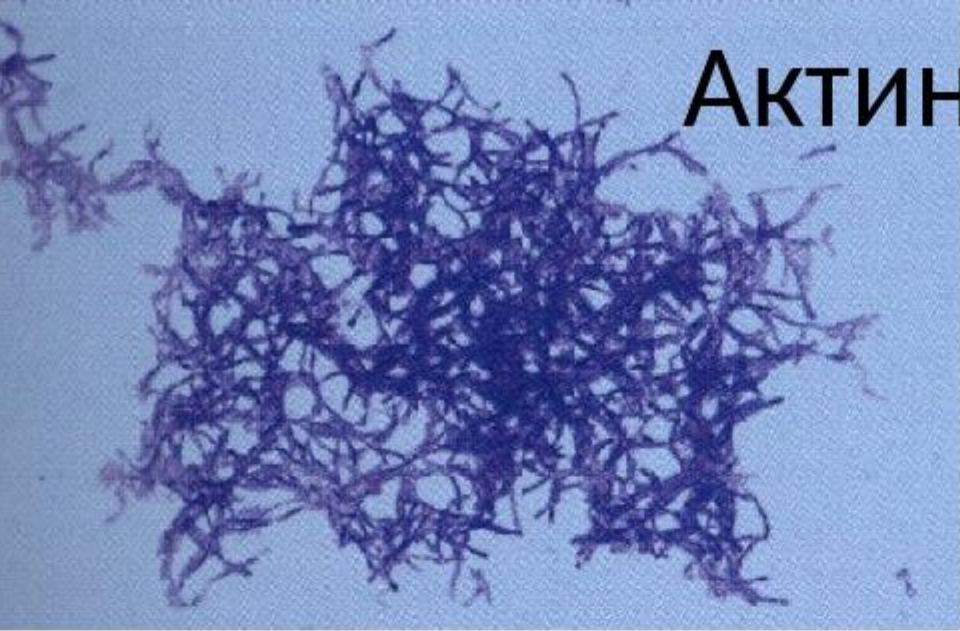
Актиномицеты



Актиномицеты- грамположительные, палочковидные бактерии, способные к ветвлению. В очагах поражения образуют скопления-друзы, напоминающие отходящие от центра лучи с утолщенными концами. Именно отсюда произошло их сегодняшнее название (от греч. Actis-луч; mykes-гриб).



Актиномицеты



Ветвящиеся нитевидные или палочковидные грамположительные бактерии. Способны образовывать споры. Родственными им считают микобактерии, нокардии, коринебактерии – палочковидные, неправильной формы бактерии. Характерна кислотоустойчивость – окрашиваются по Цилю-Нильсену в красный цвет.

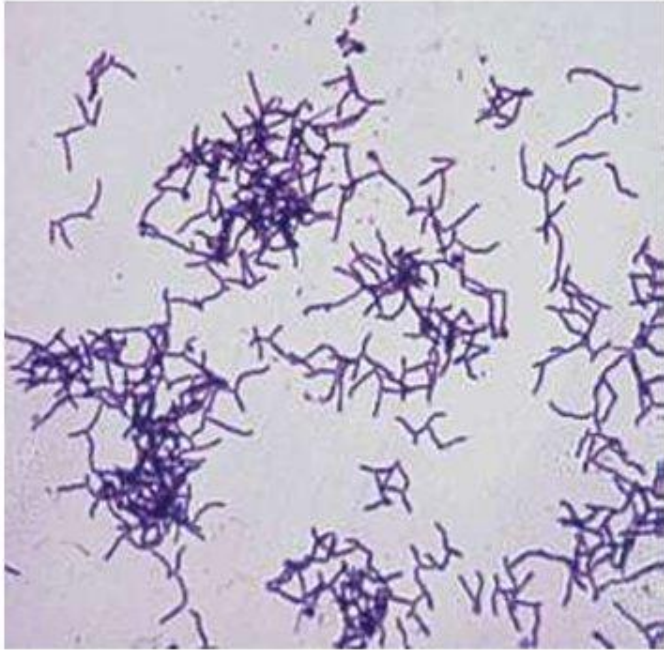
У здоровых людей актиномицеты обнаруживают в ротовой полости, зубном налете, в зубном камне, лакунах миндалин, на слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта.

Патогенные актиномицеты вызывают актиномикоз, коринебактерии — дифтерию, микобактерии — туберкулез, нокардии — нокардиоз.

- **В отличие от грибов, актиномицеты** не содержат в клеточной стенке хитина или целлюлозы; они не способны к фотосинтезу, а образуемый ими мицелий достаточно примитивен. Также они резистентны к противогрибковым средствам.

- **Актиномицеты** относят к бактериям в связи с отсутствием чётко выраженного ядра, по строению клеточной стенки, а также чувствительности к бактериофагам и антибиотикам.

Актиномицеты



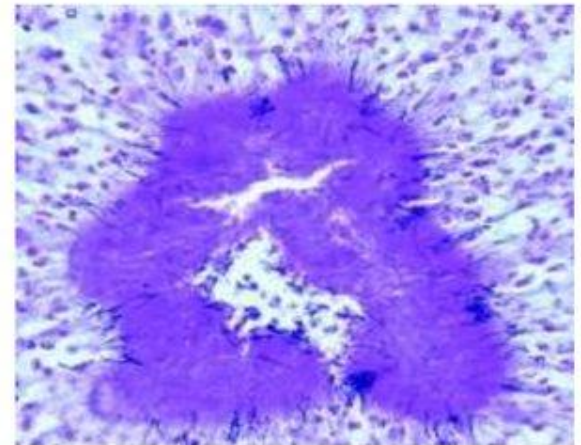
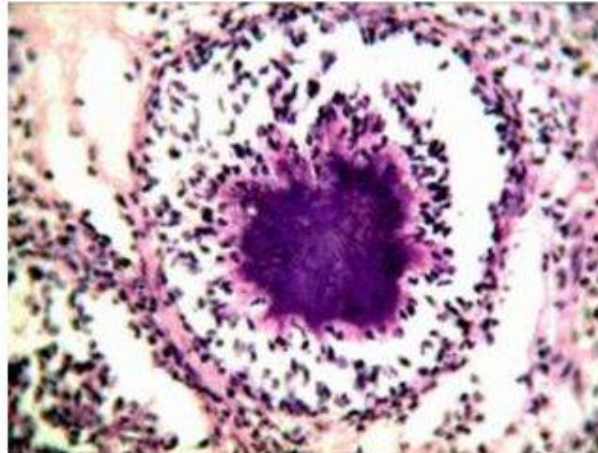
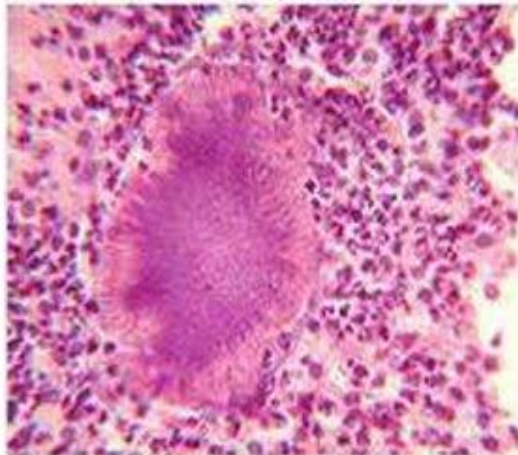
- **Морфология:**

- имеют вид палочек или нитей (**гиф**), которые переплетаясь образуют **мицелий** (субстратный и воздушный).
- на концах воздушного мицелия располагаются **спороносцы** (орган плодоношения), несущие 1 или несколько **спор**,
- жгутиков не имеют,
- истинных спор и капсул не образуют.

- **Отличие от бактерий** - в составе пептидогликана клеточной стенки имеют **арбинозу, галактозу, ксилозу и мадуросу**

Морфологические и тинкториальные свойства

- В тканях актиномицеты образуют **друзы** – беспорядочно переплетенные в центре нити мицелия с радиально отходящими к периферии нитями, колбовидно расширенными на концах. В своем развитии друзы проходят несколько стадий, вначале – это мягкие конгломераты с обильно растущим мицелием, на конечных стадиях – кальцинированные плотные тельца.

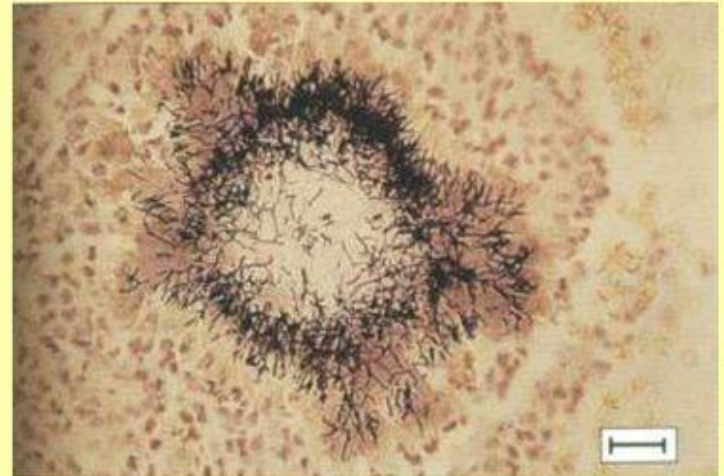


АКТИНОМИЦЕТЫ

Чистая культура



Друза



Размножаются: делением, фрагментацией, спорами.

Большинство – свободноживущие организмы, продуценты антибиотиков.

Наиболее частый возбудитель актиномикоза – *Actinomyces israelii*.

АКТИНОМИЦЕТЫ

Отдел: Firmilicutes

Порядок: Actinomycetales

Семейство: Actinomycetaceae

Роды: Actinomyces

Nocardia

Streptomyces

Виды: A. israelii

A. bovis

A. odontolyticus

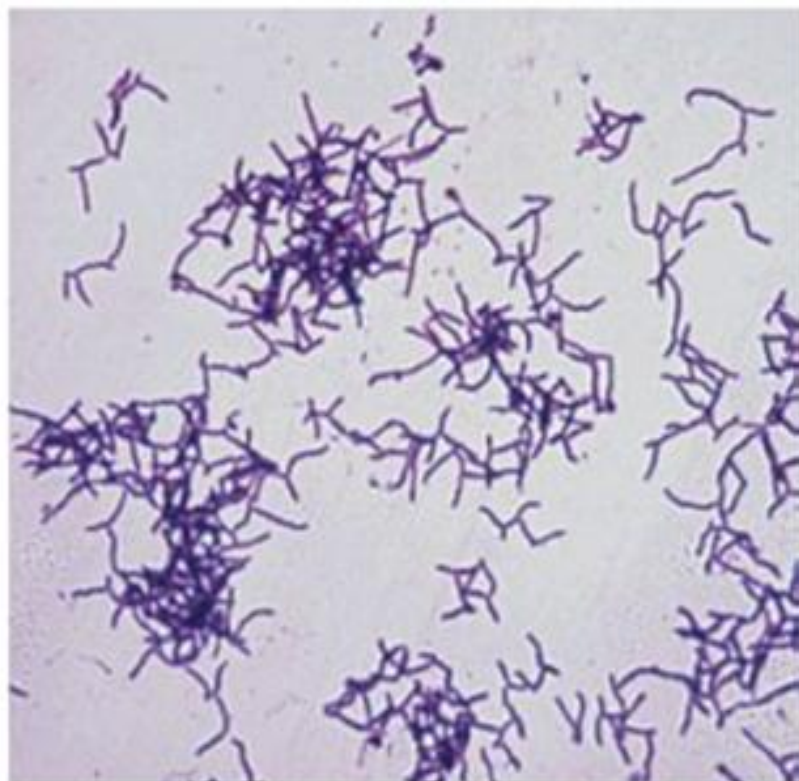
N. asteroides

N. farcinica

S. albus

В 1887 г К. Гарц, а в 1888 г М. Афанасьев выделили A. israelii в чистой культуре

От лат. myces – гриб, actis - луч



A. israelii окраска по Граму
(чистая культура)

Методы выявления



- Актиномицеты выявляют так же, как бактерии в мазках, окрашенных простыми методами либо по методу **Грама**. Актиномицеты грамположительны.
- Некоторые актиномицеты кислотоустойчивы. Для их выявления используют метод **Циля-Нильсена**.

Заключение

- 
- Бактерии – это микроскопические, преимущественно одноклеточные организмы, относящиеся к царству прокариотов.
 - Основные морфологические группы бактерий : шаровидные, палочковидные, извитые и нитевидные.
 - В бактериальной клетке различают постоянные (нуклеоид, ЦПМ, клеточная стенка, цитоплазма, рибосомы и мезосомы) и непостоянные (споры, капсула, жгутики, пили, включения) структуры.
 - Спирохеты – спирально извитые микроорганизмы, отличаются от прочих бактерий по строению клетки и способу передвижения.
 - Рикетсии – группа грам-отрицательных бактерий, являющихся облигатными внутриклеточными паразитами.
 - Хламидии – бактерии, являющиеся облигатными внутриклеточными паразитами и обладающие особым циклом развития.
 - Микоплазмы – бактерии, лишенные клеточной стенки.
 - Актиномицеты – грам-положительные бактерии, образующие подобие мицелия.



Спасибо
за внимание!