

# *Тема 2*

*Ультраструктура бактерий. Методы Грама и Нейссера.  
Кислотоустойчивые бактерии, их окраска по методу Циля-Нильсена.  
Споры и их окраска методом Ожешко. Капсула, выявление капсулы по  
методу Гинс-Бурри. Жгутики. Методы изучения подвижности микробов  
(препараты «раздавленная» и «висячая» капля, витальный метод).*

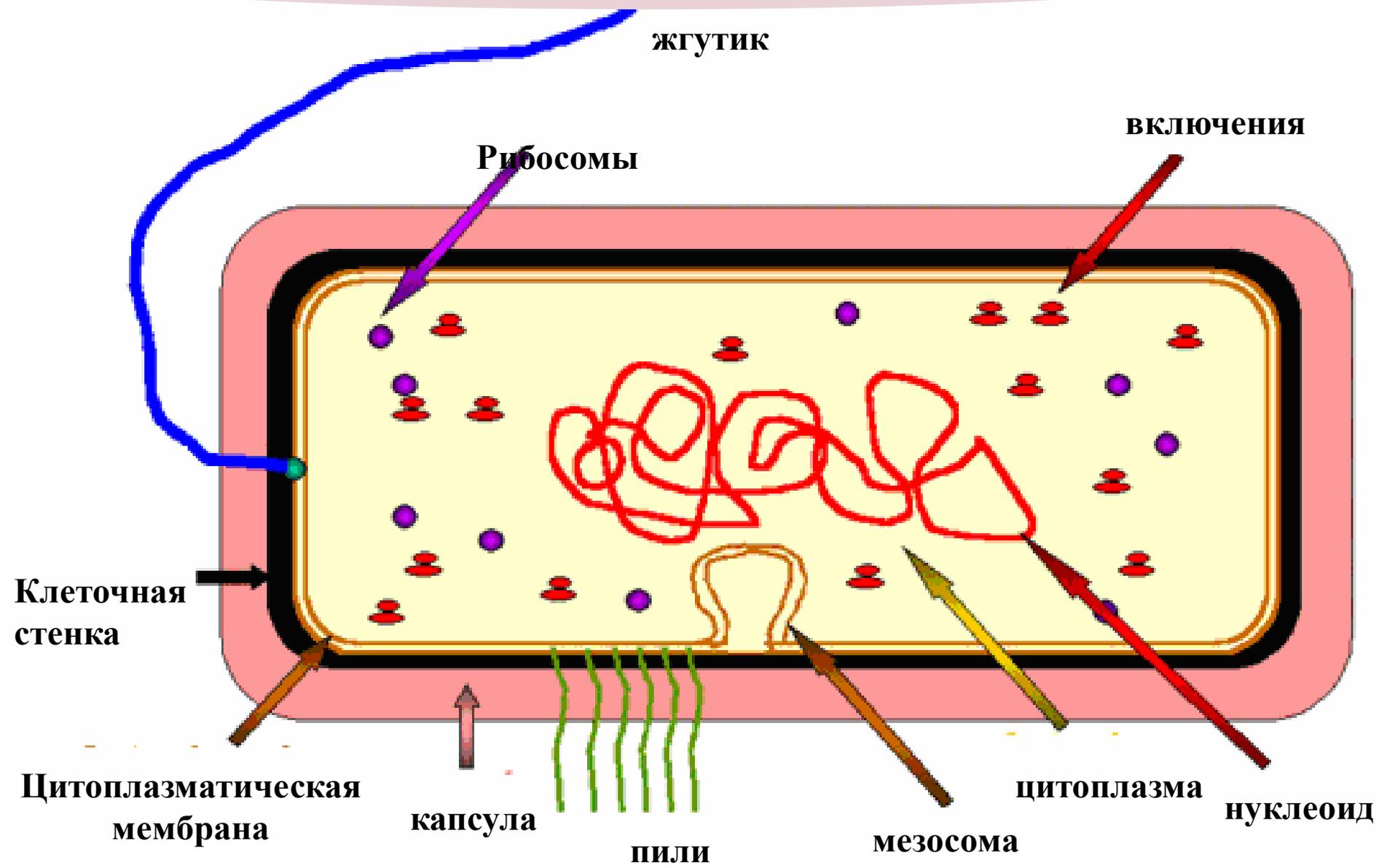
## Обсуждаемые вопросы:

- 1. Ультраструктура бактериальной клетки. Постоянные (нуклеоид, цитоплазма, рибосомы, клеточная оболочка – цитоплазматическая мембрана, клеточная стенка, слизистый слой) и непостоянные (капсула, внутриклеточные включения, жгутики, плазмиды, пили и споры) компоненты клетки.
- 2. Строение клеточной стенки бактерий, грамположительные и грамотрицательные бактерии.
- 3. Этапы окраски по методу Грама.
- 4. Волутиновые гранулы и выявление их методом Нейссера
- 5. Структура бактериальной клетки (особенности строения кислотоустойчивых бактерий).
- 6. Техника окраски кислотоустойчивых бактерий по методу Циля-Нильсена.
- 7. Значение метода Циля-Нильсена в диагностике туберкулеза.
- 8. Споры, условия и этапы образования спор. Техника окраски спор по методу Ожешко
- 9. Капсула, микрокапсула, жгутики и пили бактериальной клетки.
- 10. Капсульные бактерии, химический состав, структура и значение капсулы.
- 11. Обнаружение капсулы по методу Гинс-Бурри.
- 12. Подвижные бактерии. Строение, функция и расположение жгутиков.
- 13. Изучение подвижности микробов в препаратах, приготовленных по методу «раздавленная» и «висячая» капля.
- 14. Метод витального окрашивания.

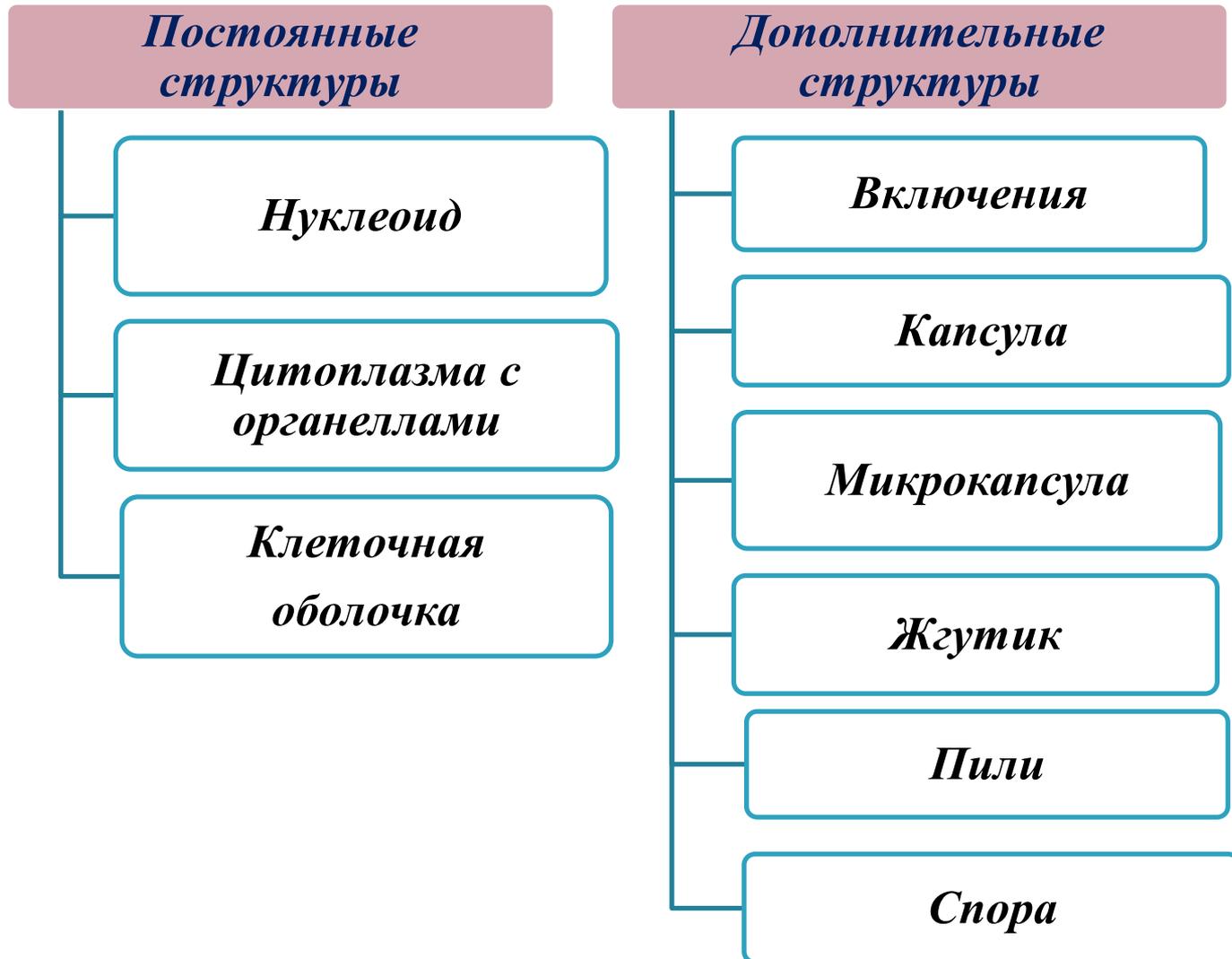
## Цель занятия:

Ознакомить студентов с общей характеристикой, морфологией и ультраструктурой бактерий. Дать информацию о постоянных и непостоянных компонентах бактериальной клетки, об особенностях строения клеточной стенки грамотрицательных и грамположительных бактерий. Подчеркнуть роль окраски по Граму в диагностике инфекционных заболеваний. Объяснить студентам технику окраски гранул волютина по методу Нейссера. Дать информацию о кислотоустойчивых бактериях, разъяснить технику окраски кислотоустойчивых бактерий по методу Циля-Нильсена, объяснить значение метода Циля-Нильсена в диагностике. Дать студентам информацию о спорах, спорообразующих бактериях, форме, расположении и значении спор, процессе спорообразования и методах окраски спор. Научить технике окрашивания по методу Ожешко. Ознакомить с капсулой бактерий, ее химическом составе и функциях. Объяснить метод выявления капсулы по методу Гинс-Бурри и его значение в диагностике. Дать студентам информацию о строении жгутиков, их расположении, химическом составе и функции. Объяснить студентам методы, используемые для выявления подвижности бактерий, и их значение в диагностике.

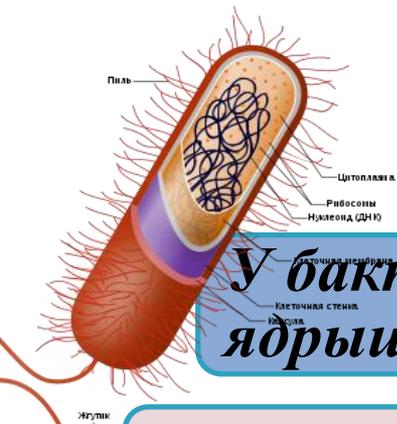
# Ультраструктура бактериальной клетки



# *Строение бактериальной клетки*



# Нуклеоид



*У бактерий отсутствуют ядро, ядерная мембрана, ядрышко и гистоны*

*Располагается в цитоплазме, состоит из 10 млн н.п.*

*Обычно в клетке содержится одна гаплоидная хромосома, представленная замкнутой в кольцо двунитовой ДНК*

*у *Borrelia burgdorferi* ДНК линейная*

*Помимо хромосомы имеются внехромосомные факторы наследственности - плазмиды*

*Выявляют нуклеоид по методу Фёльгена и Гимзы*

# Цитоплазма и внутрицитоплазматические включения

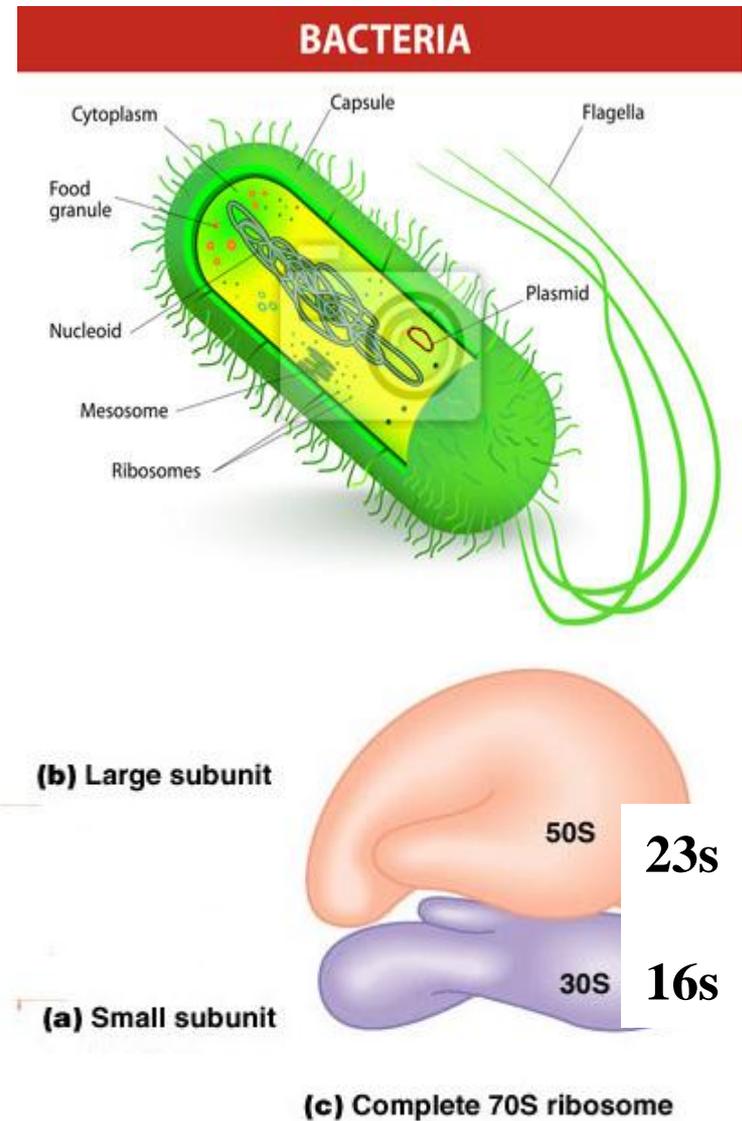
➤ **Цитоплазма** коллоидный матрикс, содержит растворимые белки, включения и рибосомы (РНК)

➤ **Рибосомы** бактерий имеют размер около 20нм, коэффициент седиментации 70S (50S и 30S – единица Сведберга)

➤ 23S-рРНК входит в состав 50S

➤ 16S-рРНК входит в состав 30S

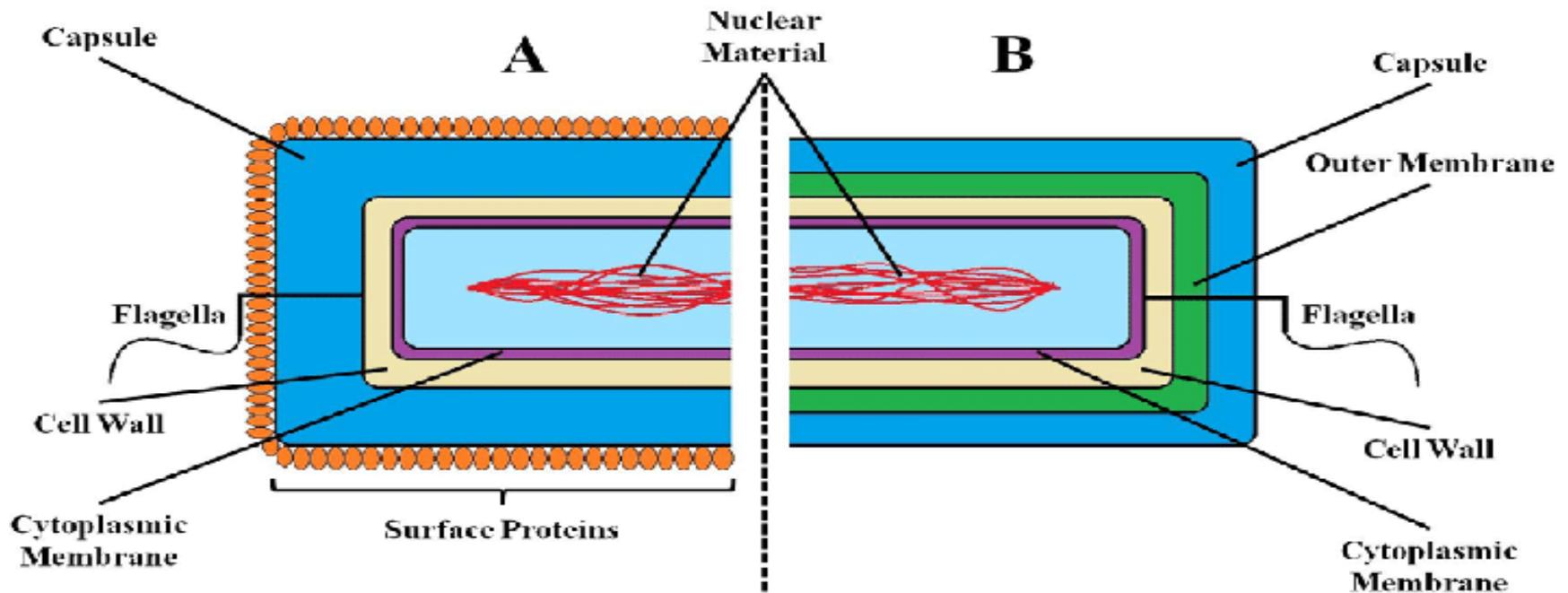
➤ В качестве запасных питательных веществ и источника энергии в цитоплазме накапливаются различные включения (гранулы гликогена, полисахариды, липиды и полифосфаты)



# Оболочка бактериальной клетки

Оболочка бактериальной клетки включает:

- ❖ Цитоплазматическую мембрану
- ❖ Клеточную стенку
- ❖ Слизистый слой- капсула, микрокапсула, гликокаликс



# Функции цитоплазматической мембраны

✓Регуляция осмотического давления

✓Трансмембранные белки участвуют в передаче сигналов, липидные слои обуславливают биологические свойства.

✓Обладает избирательной проницаемостью.

✓Обуславливает перенос веществ посредством активного транспорта

✓Использует для дыхания систему транспорта электронов.

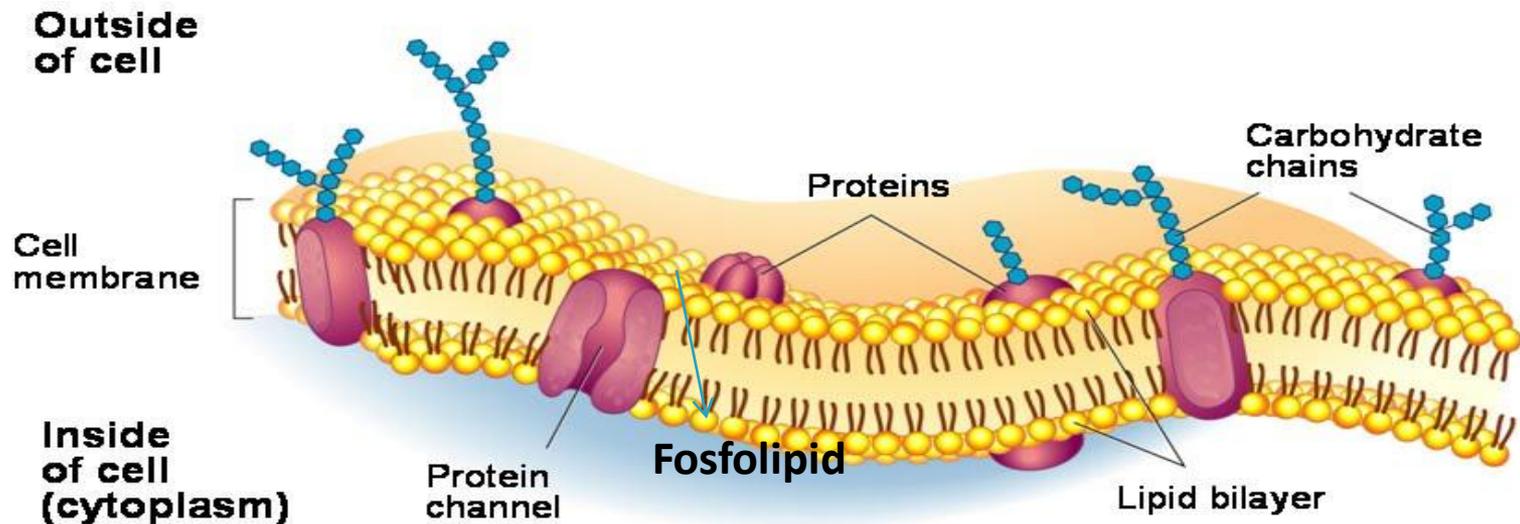
✓Участвует в переносе биосинтетических и гидролитических ферментов, транспортных и сигнальных белков.

✓Имеет специфические участки для связывания с хромосомой и плазмидами.

✓Внутренние слои ЦПМ содержат актиноподобные белковые волокна, определяющие морфологию бактерий. Эти волокна обеспечивают спиралевидную форму трепонем.

## *Цитоплазматическая мембрана*

- *Не содержит стеролов (за исключением микоплазм)*
- *Состоит из билипидного слоя (фосфолипиды) и встроенных мембранных белков*
- *Основная функция - энергетический синтез и транспорт электронов*
- *Содержит транспептидазу (пенициллинсвязывающий белок)*
- ***мезосомы*** → *впячивания мембраны внутрь цитоплазмы*  
(у грамположительных бактерий выполняют функцию митохондрий)
- *центральная мезосома → репликация ДНК*
- *латеральная мезосома → синтез белков-ферментов*



# *Клеточная стенка*

*Защитный слой окружающей цитоплазматическую мембрану*

- Придает форму бактериальной клетке*
- Выполняет барьерную функцию*
- Предохраняет клетку от осмотического лизиса*
- Обеспечивает взаимодействие с клеткой хозяина*
- Обнаруживается по методу Грама*
- Играет роль в патогенезе бактериальных инфекций*

# Клеточная стенка

- **Клеточная стенка** бактерий имеет толщину 15–20 нм и составляет 20-30% сухого остатка
- Клеточная стенка — прочная структура, придающая бактерии определенную форму, имеет сложное строение и состоит из нескольких слоев
- Различное отношение к окраске по методу Грама , и подразделение бактерий на две группы – **грамположительные** и **грамотрицательные** основывается на различие в строении их клеточной стенки

# **Строение клеточной стенки грамположительных бактерий**

✓С пептидогликаном клеточной стенки ковалентно связаны **тейхоевые кислоты** (от греч. *teichos*-стенка).

✓Молекулы тейхоевых кислот являются полимерами **глицеролфосфата и рибитолфосфата**.

✓Тейхоевые кислоты растворимы в воде.

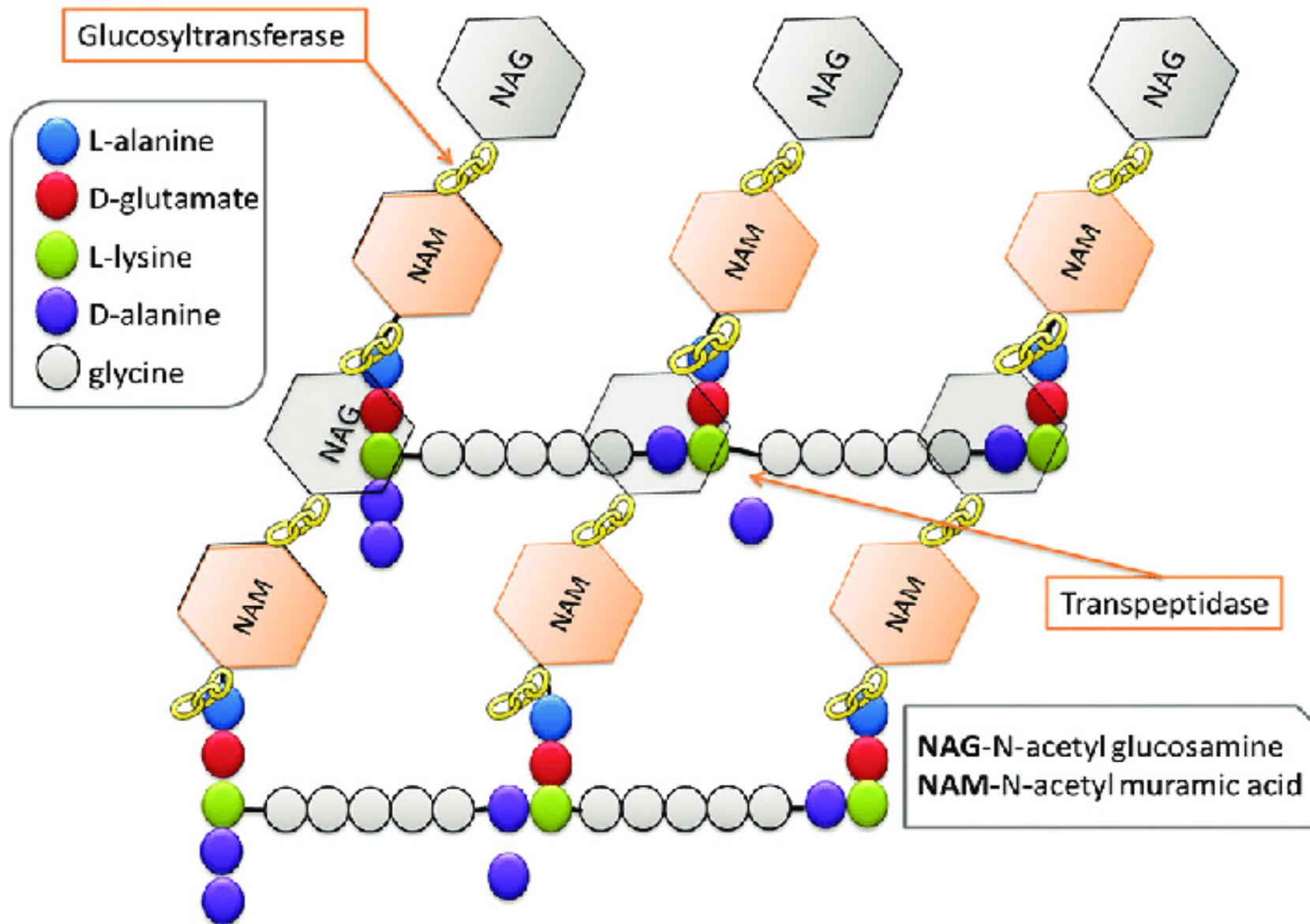
✓Тейхоевые кислоты участвуют в делении клетки, в регуляции синтеза и распада клеточной стенки, в адгезии на клетках организма.

✓Являются фактором патогенности.

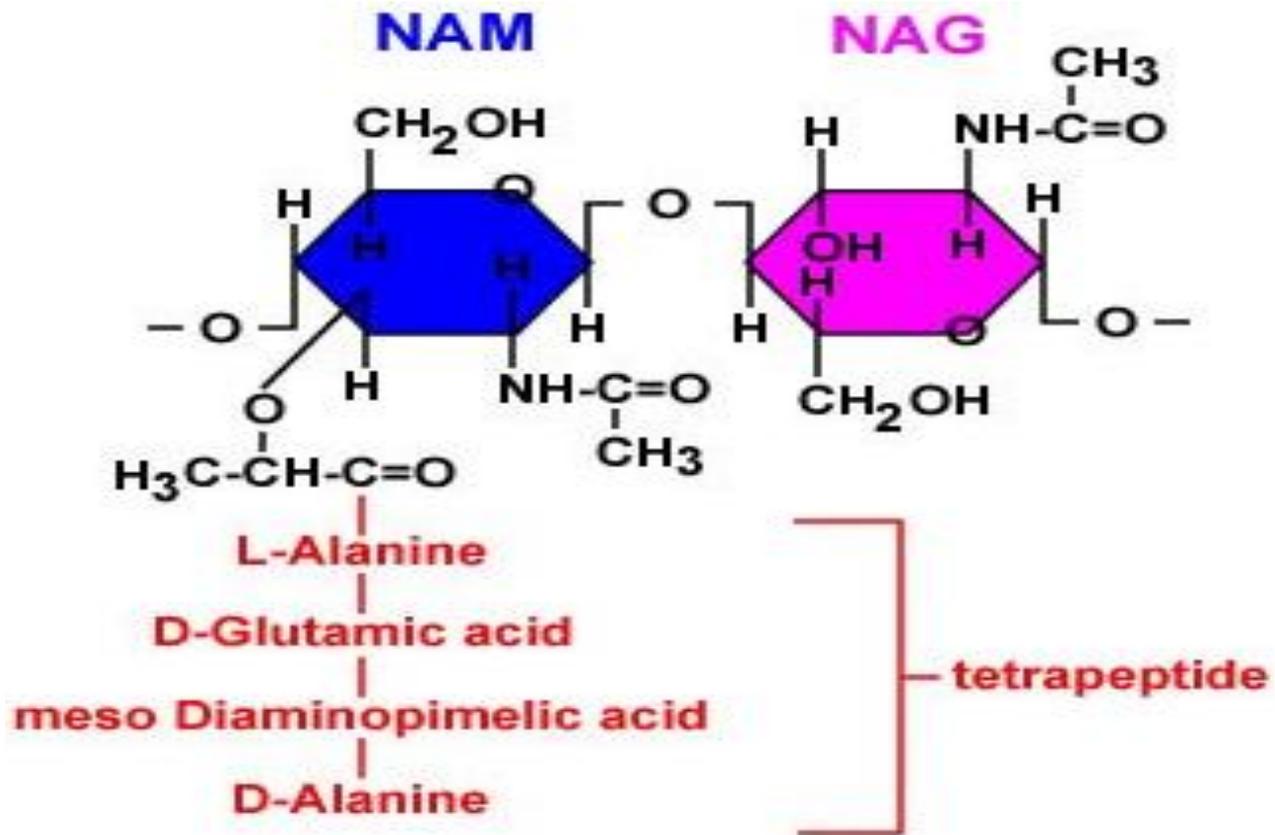
# Строение пептидогликана:

- Пептидогликановый слой, состоит из пептида (протеина) и гликана (полисахарида).
- **N-ацетилглюкозамин** и **N-ацетилмурамин** соединяясь гликозидными связями образуют молекулу гликана.
- Молекулы гликана расположены параллельно и соединены между собой пептидными связями.
- **N-ацетилмурамовые** кислоты двух молекул гликана поперечно соединены между собой 4-мя аминокислотами (тетрапептидами), образуя пептидогликан.
- Количество слоев в грам-положительных бактериях достигает 40, составляя 50% массы клеточной стенки.
- Количество слоев в грам-положительных бактериях 1-2 слоя, составляя 5-10% массы клеточной стенки.

# Структура пептидогликана

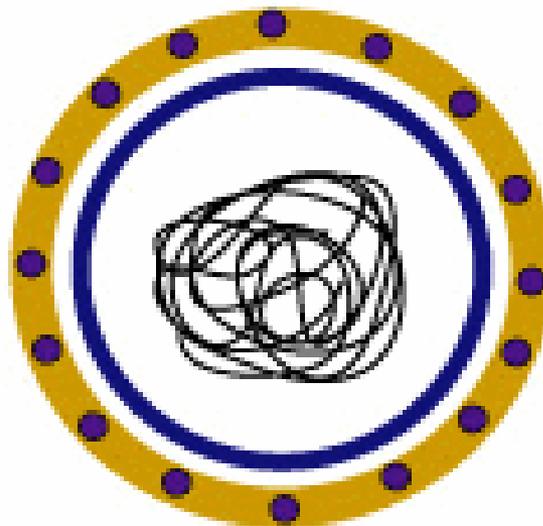


# Структура пептидогликана



# Биологическая активность пептидогликана

DEATH OF GRAM-POSITIVE BACTERIUM  
AND RELEASE OF PEPTIDOGLYCAN AND  
TEICHOIC ACIDS



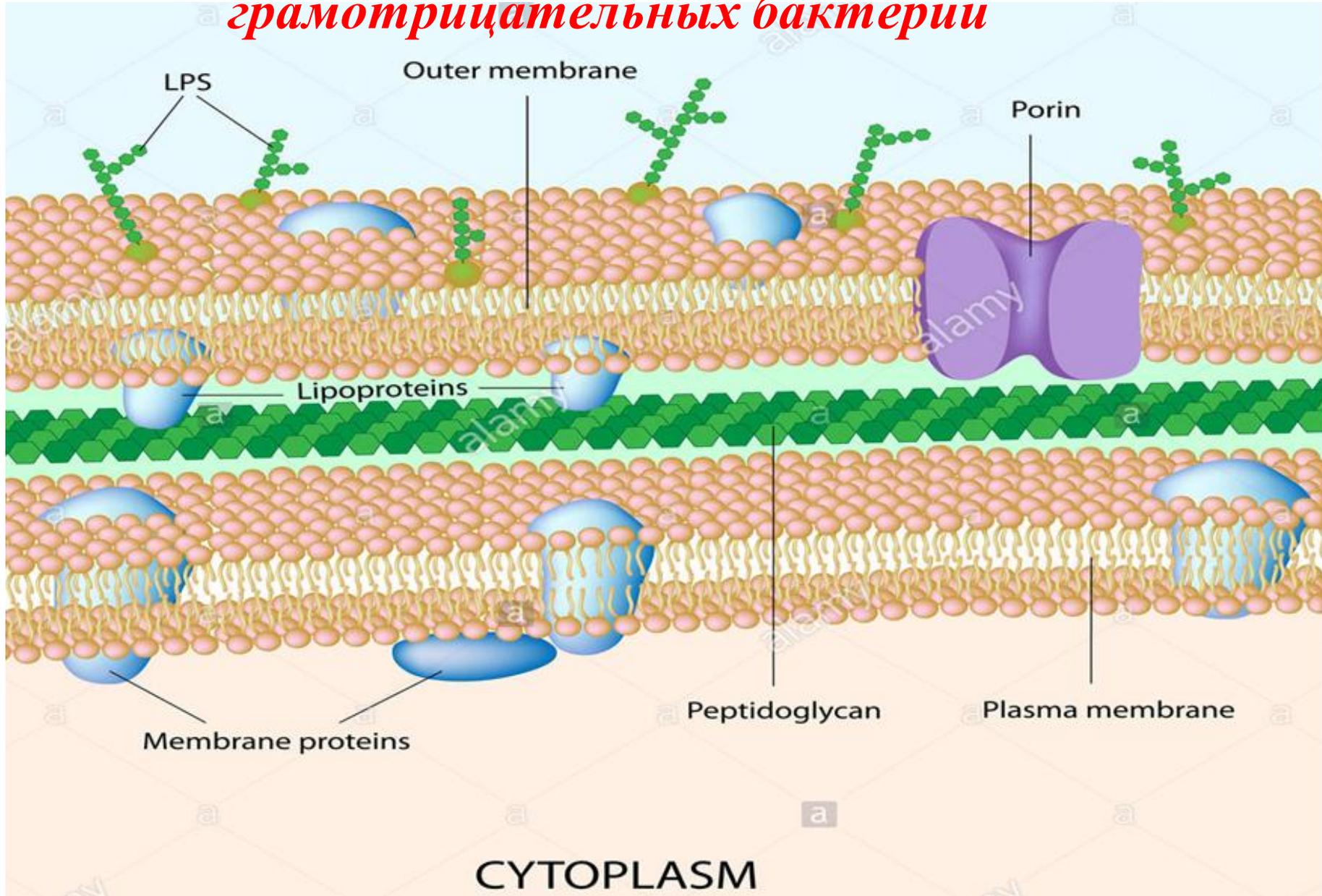
## *Клеточная стенка грамотрицательных бактерий*

- Внешний слой клеточной стенки грам(-) бактерий составляет наружная мембрана.*
- Наружная мембрана содержит фосфолипиды и ЛПС.*
- Белки (порины) наружной мембраны снижают проницаемость клеточной стенки грамотрицательных бактерий.*
- Между наружной и цитоплазматической мембраной находится периплазматическое пространство.*
- Периплазма (составляет 20-40% клеточной стенки) содержит пептидогликан и белки.*
- В периплазматическом пространстве содержатся адаптивные ферменты и ферменты, участвующие в обменных процессах ( н-р, бета-лактамаза и др).*

## *Клеточная стенка грамотрицательных бактерий*

- В состав клеточной стенки грамотрицательных бактерий входит **наружная мембрана**, связанная посредством липопотеина с подлежащим слоем пептидогликана. Она состоит из:
  - **Фосфолипидов,**
  - **Липопотеинов,**
  - **Липополисахаридов (ЛПС)**

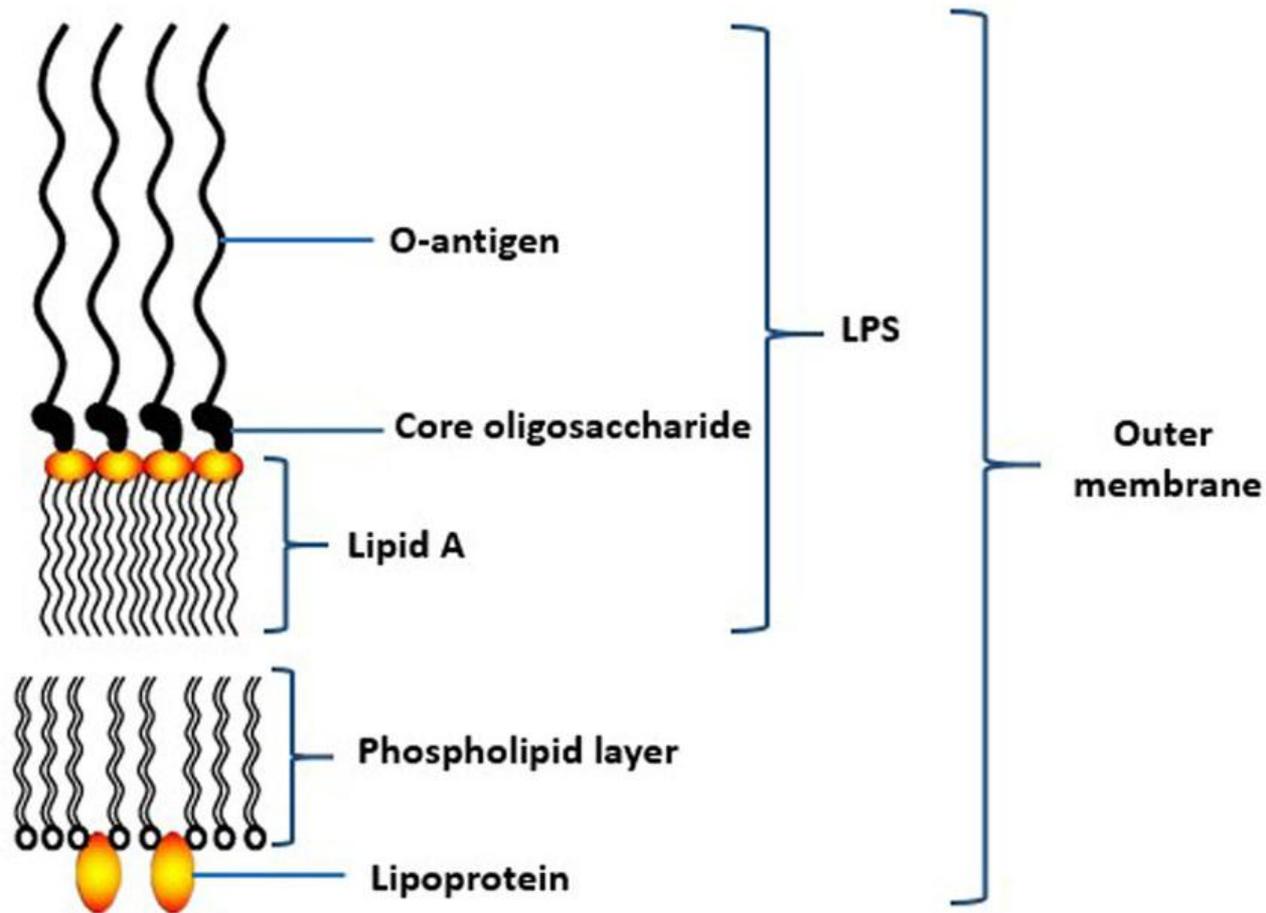
# Строение клеточной стенки грамотрицательных бактерий



## Наружная мембрана клеточной стенки грамотрицательных бактерий

- Внутренний слой **наружной мембраны** представлен фосфолипидами, а в наружном слое расположен липополисахарид .
- Наружная мембрана грамотрицательных бактерий отличается проницаемостью от других биологических мембран.
- Благодаря содержанию липидов она характеризуется гидрофобностью.
- Молекулы белка, называемые **поринами**, окаймляют гидрофильные поры в наружной мембране, через которые путем пассивной диффузии проходят вода и мелкие гидрофильные молекулы ( сахара, аминокислоты и пр.)

# Клеточная стенка грамотрицательных бактерий (наружная мембрана)



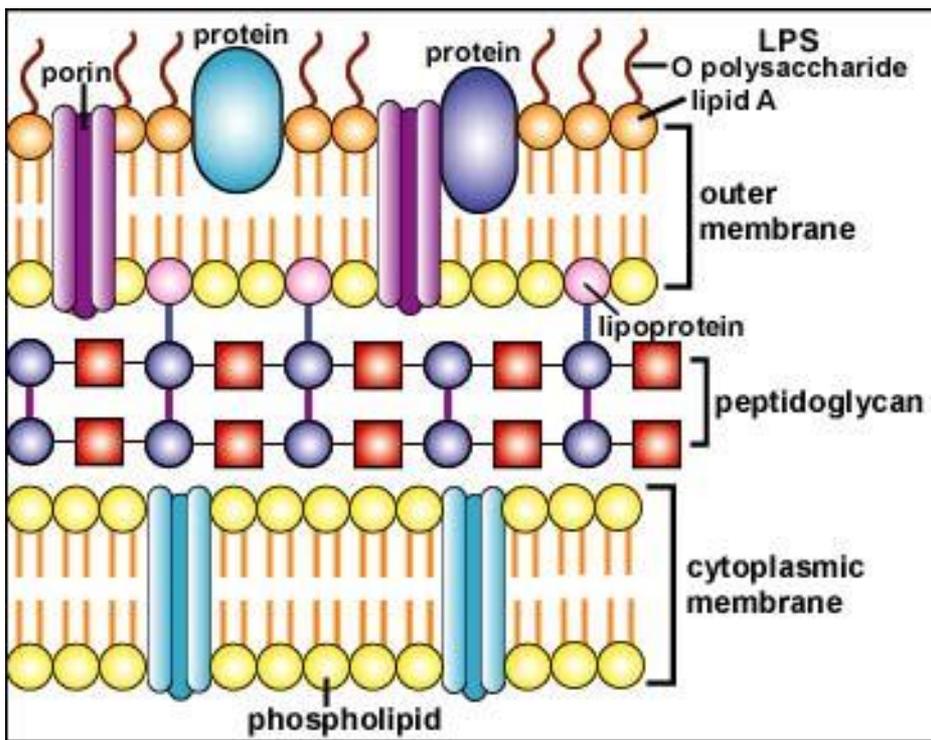
## Клеточная стенка грамотрицательных бактерий (липополисахарид- ЛПС)

- ЛПС наружной мембраны состоит из трех фрагментов:
- **липида А** — консервативной структуры, практически одинаковой у грамотрицательных бактерий; ЛПС «заякорен» в наружной мембране липидом А
- **ядра**, или стержневой, коровой части (от лат. *core* — ядро), относительно консервативного олигосахарида;
- высоковариабельной **О-специфической цепи** полисахарида, образованной повторяющимися идентичными олигосахаридными последовательностями. О-специфическая цепь обуславливает серогруппу, серовар бактерий (**О-антиген**)
- Таким образом полисахаридная часть обуславливает **антигенность**, липидная часть - обуславливает **токсичность** ЛПС

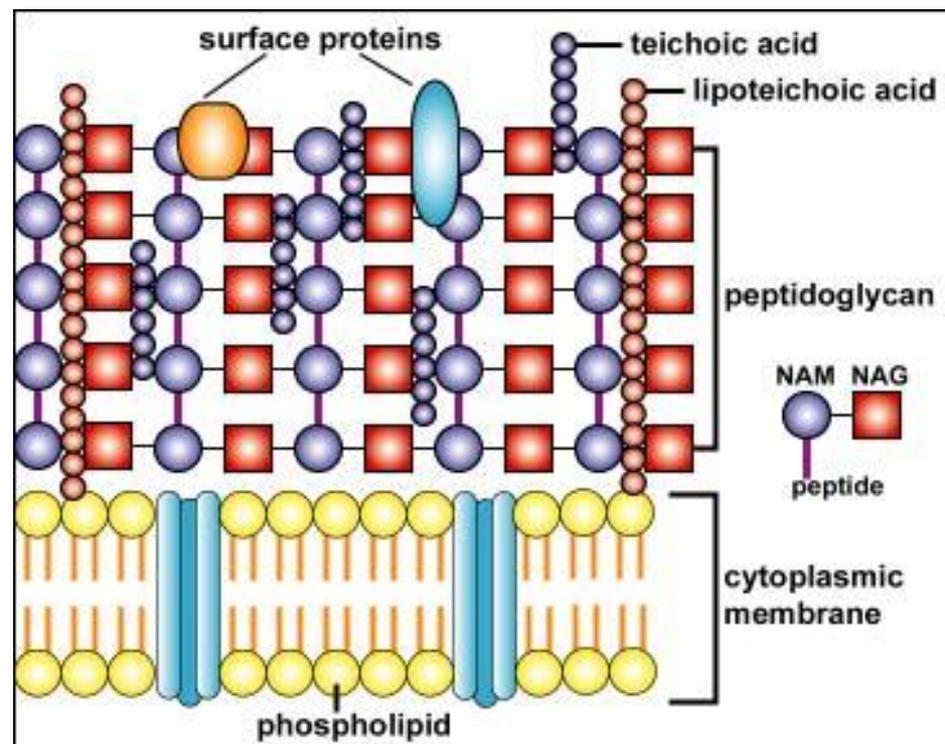
## *Отличия клеточной стенки грамположительных и грамотрицательных бактерий*

- *Грамположительные бактерии имеют более толстую клеточную стенку толщиной 50 нм и более, 40-80% ее составляет пептидогликан.*
- *Грамотрицательные бактерии имеют более тонкую клеточную стенку, толщиной 15-20 нм, пептидогликан составляет 5-10% массы клеточной стенки*

# Схема строения клеточной стенки грамотрицательных бактерий



# Схема строения клеточной стенки грамположительных бактерий



# *Отличия клеточной стенки грамположительных и грамотрицательных бактерий*

<i>Особенности</i>	<i>Грам+</i>	<i>Грам-</i>
<i>Толщина</i>	<i>20-80 нм</i>	<i>10 нм</i>
<i>Содержание пептидогликана</i>	<i>&gt;50%</i>	<i>10 -20 %</i>
<i>Тейхоевые кислоты</i>	<i>+</i>	<i>-</i>
<i>Липиды и липопротеины</i>	<i>0-3%</i>	<i>58%</i>
<i>Белки</i>	<i>0%</i>	<i>9%</i>
<i>Липополисахарид</i>	<i>0%</i>	<i>13%</i>
<i>Чувствительность к пенициллину</i>	<i>+</i>	<i>-</i>
<i>Чувствительность к лизоциму</i>	<i>+</i>	<i>-</i>

# *Утрата клеточной стенки*

*Грам(+)*

*протопласты*

*Не  
размножаются*

*Грам(-)*

*сферопласты*

*Не  
размножаются;  
способны к  
реверсии*

*Грам(-) и  
Грам(+)*

*L- формы -  
размножаются*

*Стабильные  
– не могут  
возвращаться  
в исходную  
форму*

*Нестабильные –  
способны к  
реверсии*

- *Латентная инфекция*
- *Развитие антибиотикорезистентности*

# *Техника окраски по методу Грама*

*1. На фиксированный мазок помещают полоску фильтровальной бумаги и добавляют раствор **генцианового фиолетового** на 2-3 мин*

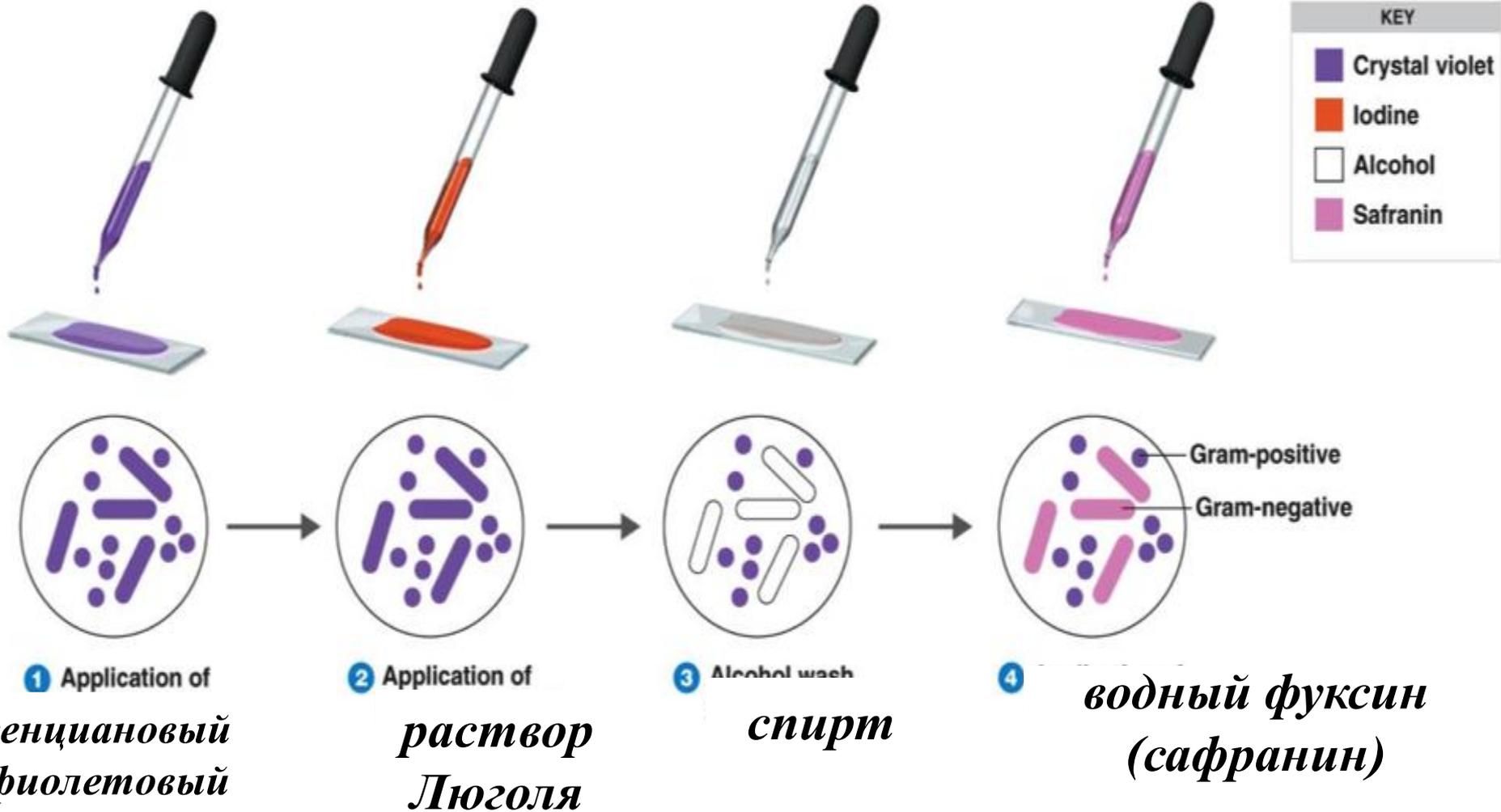
*2. Бумагу снимают и наносят **раствор Люголя** на 1 мин*

*3. Сливают раствор Люголя, обесцвечивают мазок 96% спиртом в течение 30-40 сек*

*4. Мазок промывают водой, наносят **водный фуксин** на 1-2 мин. Промывают еще раз, высушивают и микроскопируют.*

***Грам (-) бактерии** окрашиваются **в красный**,  
**грам(+)** - **в темно-фиолетовый цвет***

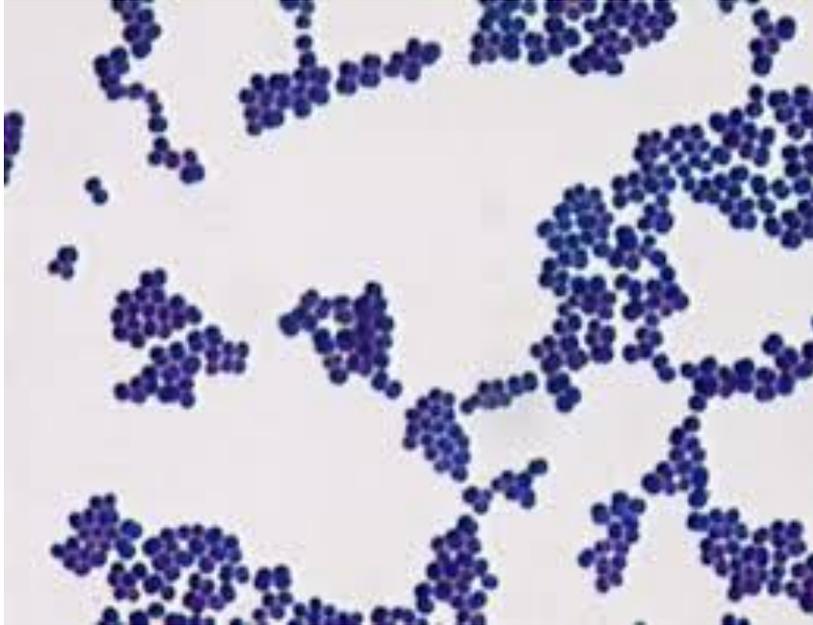
# Техника окраски по методу Грама



# Техника окраски по методу Грама



# Метод Грама



*Грамположительные  
(S.aureus)*

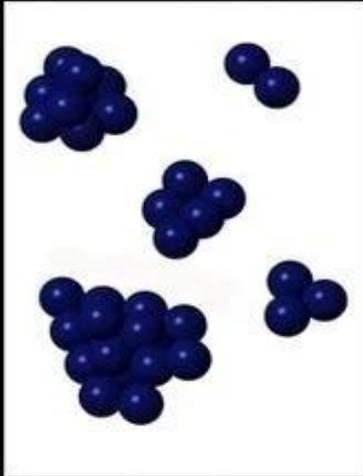


*Грамотрицательные  
(E.coli)*

# Грам положительные и Грам отрицательные бактерии

www.bacteriainphotos.com

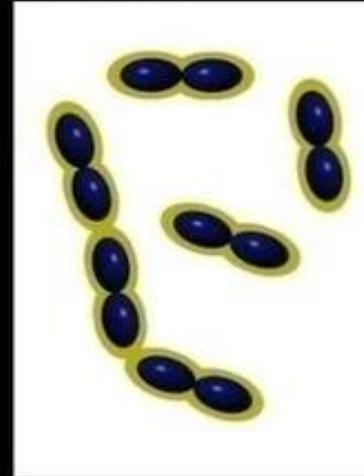
GRAM - POSITIVE



*Staphylococcus aureus*



*Streptococcus agalactiae*

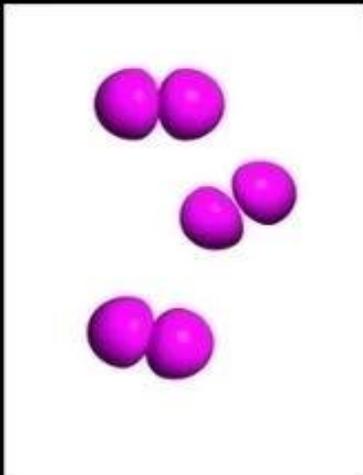


*Streptococcus pneumoniae*



*Listeria monocytogenes*

GRAM - NEGATIVE



*Neisseria meningitidis*



*Haemophilus influenzae*



*Klebsiella pneumoniae*



*Escherichia coli*

## *Плохо окрашиваются по методу Грама*

- *Mycobacterium* (связано с содержанием большого количества липидов в клеточной стенке)
- *Rickettsia* и *Chlamydia* (очень мелкие по размерам, облигатные внутриклеточные паразиты)
- *Legionella pneumophila* (плохо воспринимают раствор фуксина)
- *Mollicutes* (в связи с отсутствием клеточной стенки- род *Mycoplasma*)
- *Treponema pallidum* (слабо воспринимают красители)

# Зерна волютина

- *Внутрицитоплазматические включения в виде гранул полифосфатов. Впервые были описаны у **Spirillum volutans**.*
- *Накапливаются в клетке при избытке питательных веществ, за счет них клетка может несколько раз делиться в случае недостатка источника фосфора в среде.*
- *Некоторые микроорганизмы способны накапливать волютин в случае отсутствия питательных компонентов. Дрожжевые грибы, коринебактерии и микобактерии откладывают их на последней стадии роста.*

# Зерна волютина

➤ Гранулы полифосфатов – метахроматические включения (зерна **Бабеша-Эрнста**) выявлены у коринебактерий (*Corynebacterium diphtheria*, *Gardnerella vaginalis* и пр.), играют роль при дифференциации этих бактерий.

➤ Обнаруживаются по **методу Нейссера**.

➤ При электронной микроскопии имеют вид электронно-плотных гранул размером 0,1-1,0 мкм

## *Corynebacterium diphtheria*



Окраска по методу Нейссера

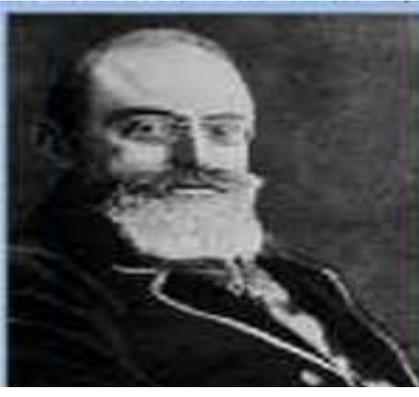
## *Техника окраски по методу Нейссера*

*Фиксированный препарат окрашивают ацетатом синьки Нейссера в течение **2-3 мин.***

*Краситель смывают водой и наносят раствор Люголя на **30 сек - 1 мин.***

*Смывают раствор Люголя и докрашивают везувином или хризоидином в течение **5-7 мин.** Далее мазок промывают водой, высушивают и микроскопируют.*

# Результат окраски по методу Нейссера



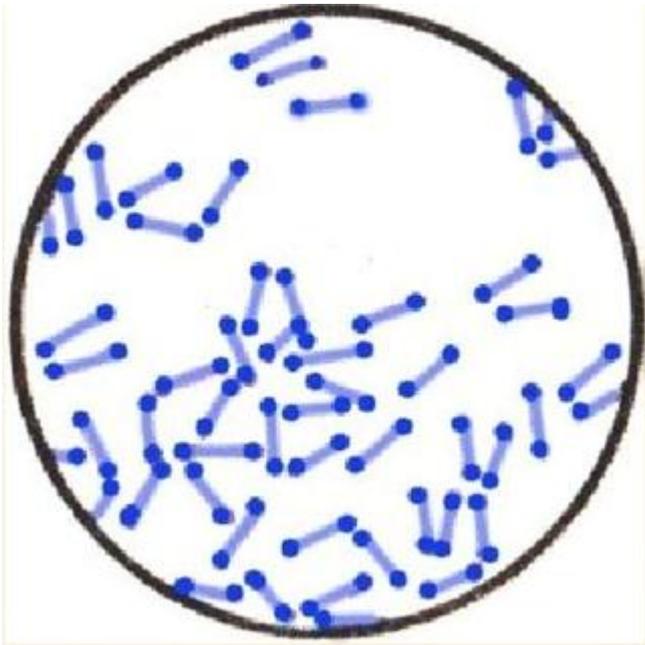
А.Л.Нейссер  
(1855-1916)



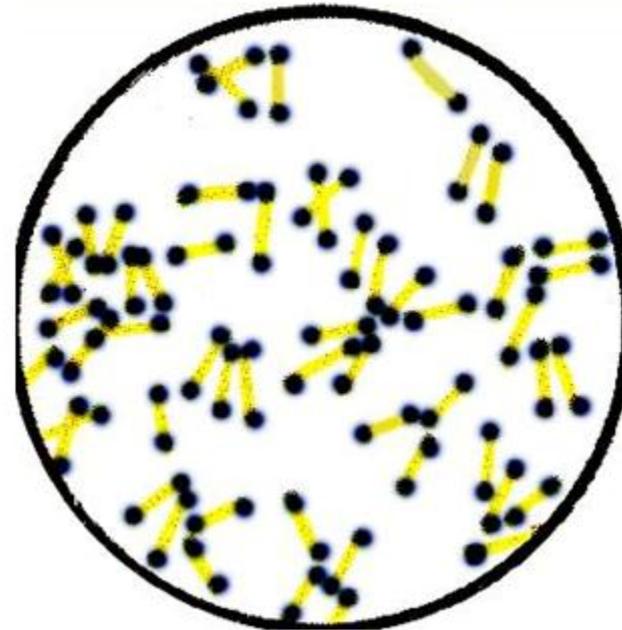
*Зерна волютина, имеющие щелочную реакцию окрашиваются ацетатом синьки в темно-синий цвет.*

*Цитоплазма имеющая кислое значение рН воспринимает щелочной **везувин** и окрашивается **в желтый цвет.***

# *Зерна волютина у коринебактерий*

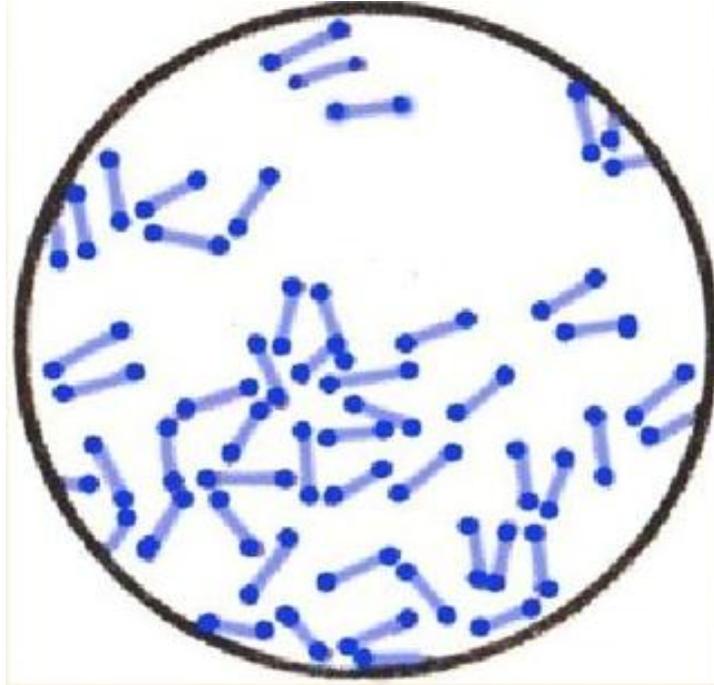


*Окраска по методу  
Лёффлера*



*Окраска по методу  
Нейссера*

# *Зерна волютина*



*Метод Лэффлера*

# Кислотоустойчивые бактерии

*Не обесцвечиваются кислотой, спиртом и щелочью из-за слабой проницаемости клеточной стенки. Это свойство обусловлено наличием в клеточной стенке:*

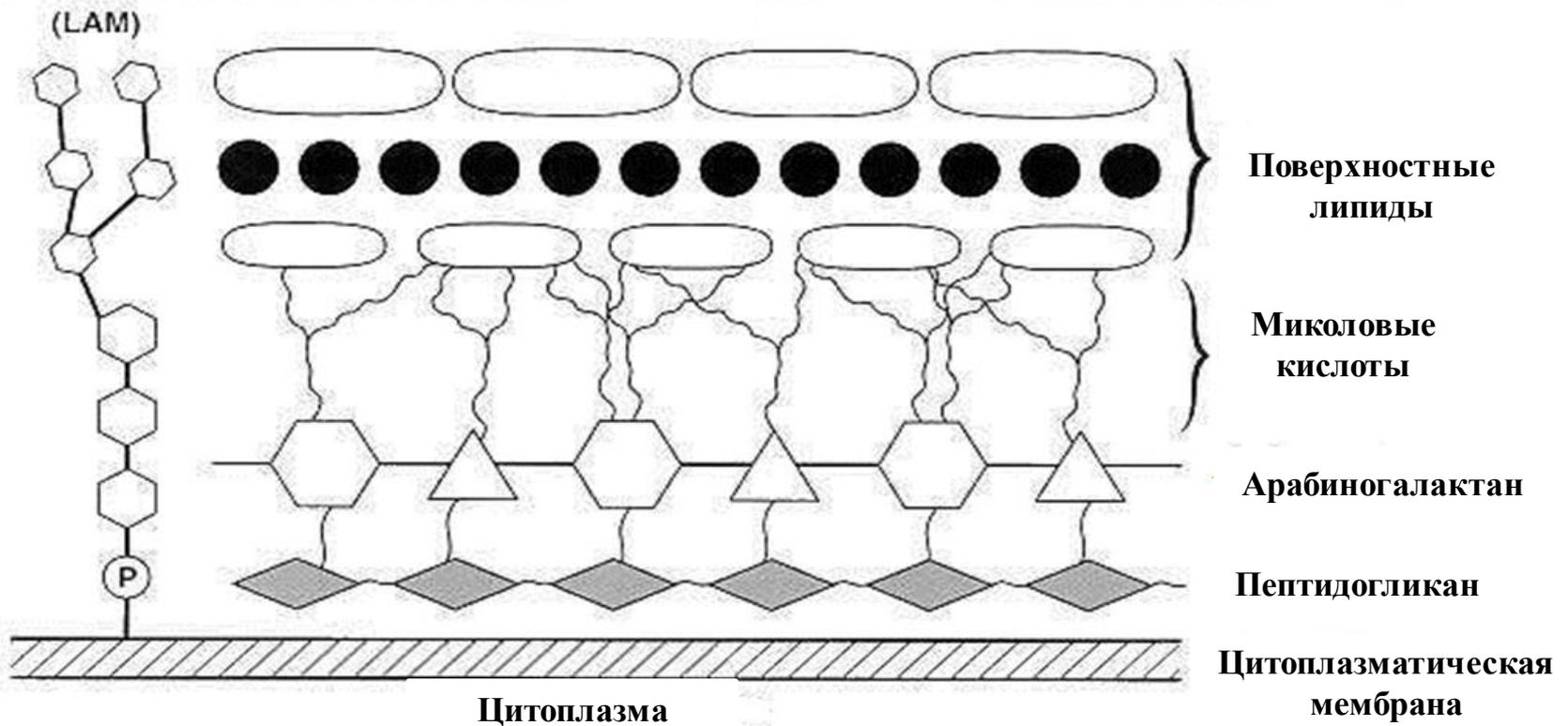
- *Липидов*
- *Миколовых кислот (восковидные субстанции и пр. )*
- *Оксикислот и пр.*

✓ *Mycobacterium tuberculosis* (возбудитель туберкулеза)

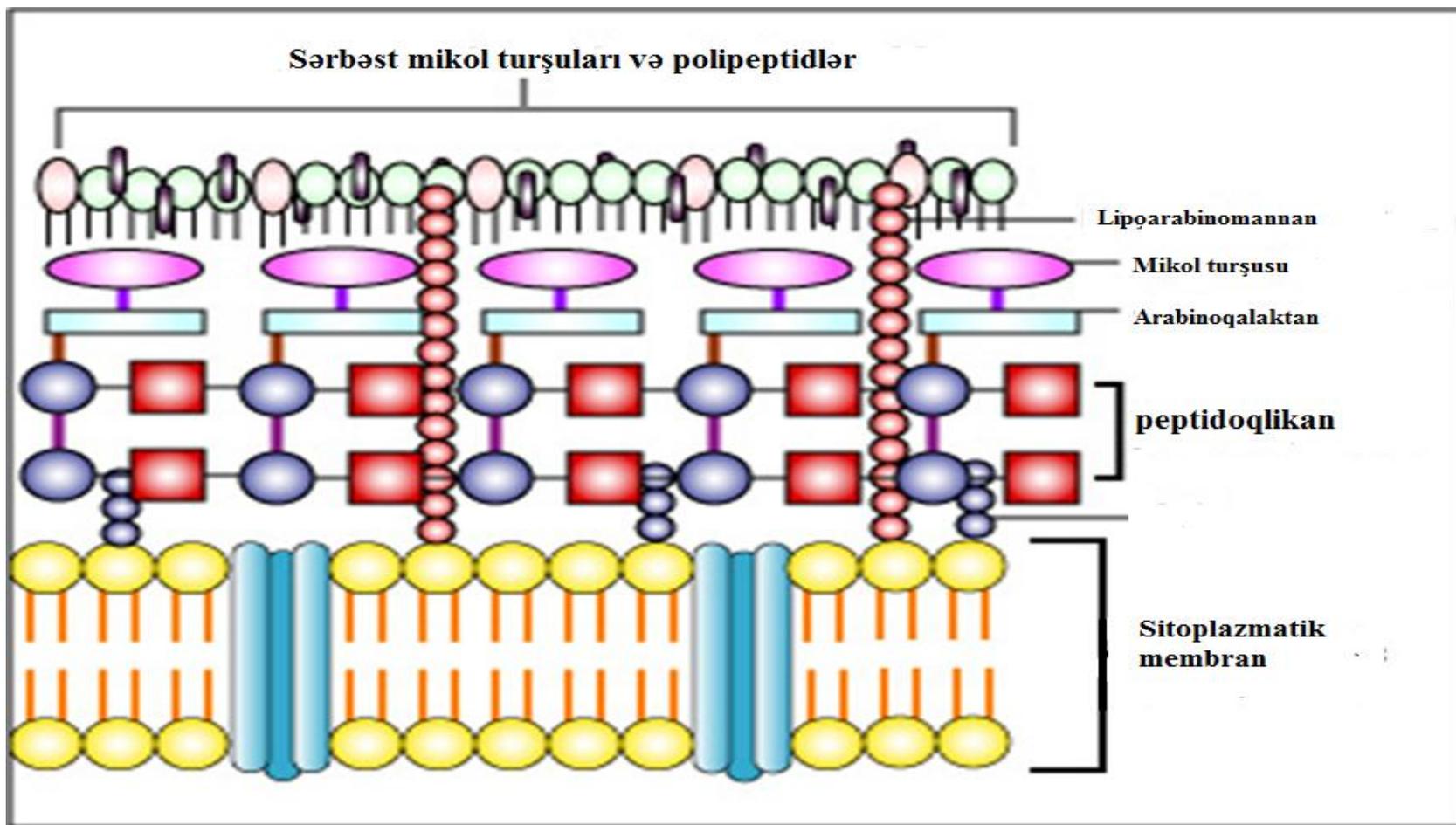
✓ *M. leprae* (возбудитель лепры)

✓ *некоторые представители рода Actinomyces*

# Схема строения клеточной стенки кислотоустойчивых бактерий



# Строение клеточной стенки кислотоустойчивых бактерий



# Методика окраски по методу Циля-Нильсена

*На высушенный и фиксированный мазок кладут фильтровальную бумагу, наливают карболовый фуксин, подогревают над пламенем горелки до появления паров, при подсыхании красителя добавляют повторно 2-3 раза карболовый фуксин на охлажденное стекло*

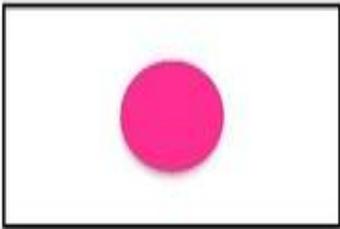
*Снимают фильтровальную бумагу, охлаждают препарат и промывают водой. Обесцвечивают мазок погружением 3-5 раз в стаканчик с 5% раствором серной кислоты или 3% HCL*

*Мазок промывают водой и окрашивают метиленовым синим в течение 3-5 мин. Затем промывают еще раз, высушивают и микроскопируют. Кислотоустойчивые бактерии окрашиваются в красный цвет, так как не обесцвечиваются кислотой, некислотоустойчивые легко теряют окраску при обесцвечивании и окрашиваются в синий цвет*

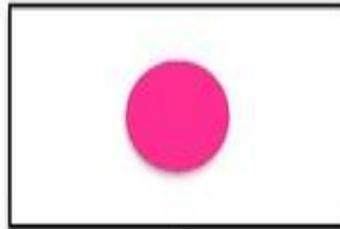
# Этапы окраски по методу Циля-Нильсена

Реактивы	Кислото-устойчивые бактерии	Цвет	Некислото-устойчивые бактерии	Цвет
Карболовый фуксин		красный		красный
Кислота/спирт		красный		бесцветный
Метиленовый кислый		красный		синий

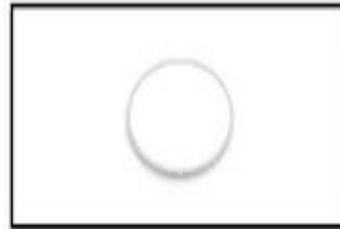
1. Apply primary stain of carbolfuchsin for 30 seconds



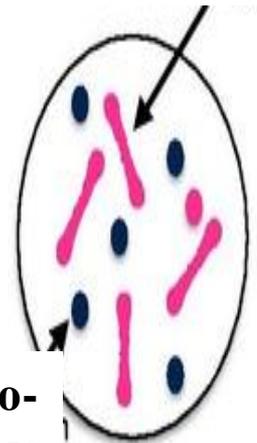
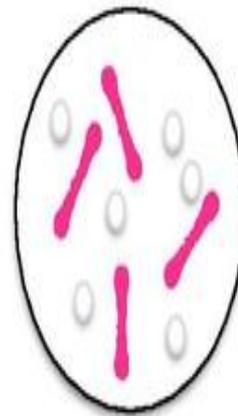
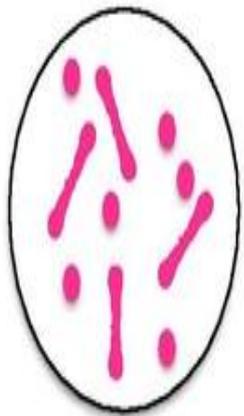
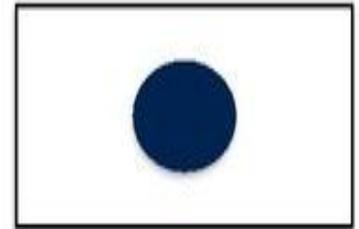
2. Heat fix cells to the slide using flame



3. Decolorize with acid alcohol for 15-20 seconds



4. Apply counterstain of methylene blue for 30 seconds then rinse excess stain



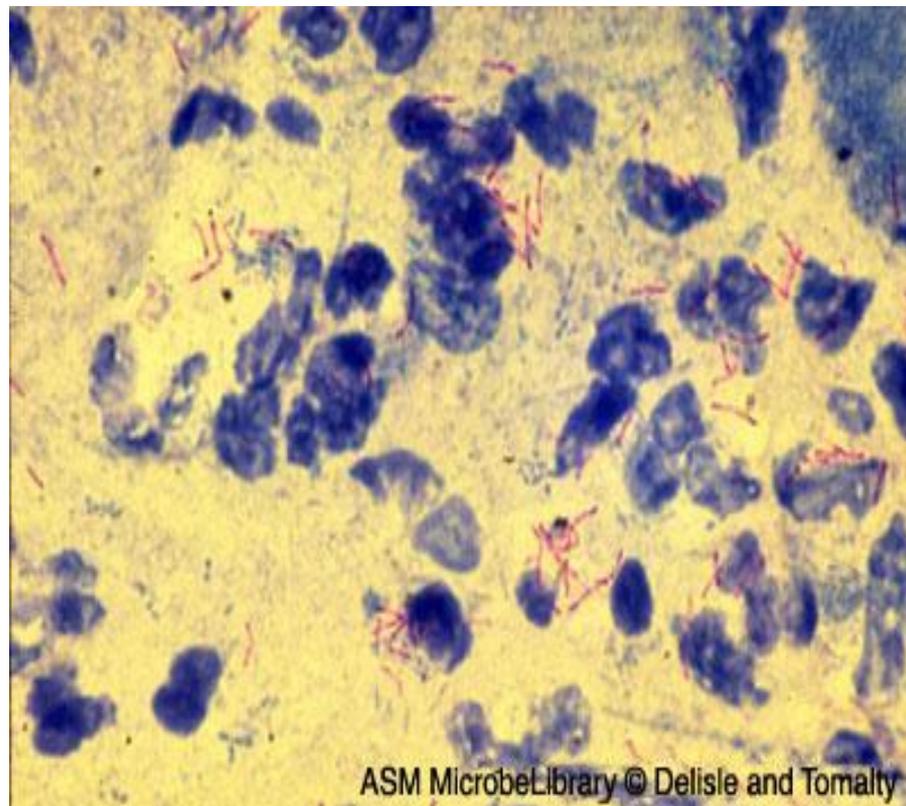
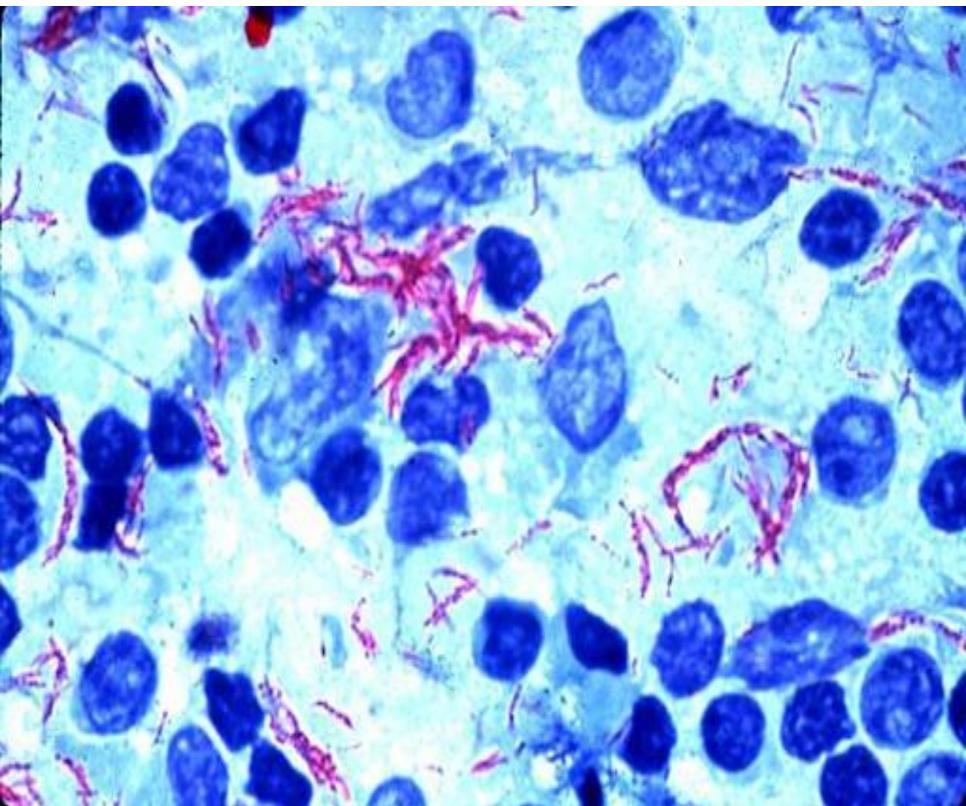
**Кислотоустойчивые бактерии**

**Некислотоустойчивые бактерии**

## Техника окрашивания по Цилю-Нильсену



# Кислотоустойчивые бактерии



*Кислотоустойчивые бактерии окрашиваются в **красный** цвет*

*Некислотоустойчивые - в **синий** цвет*

# Споры и спорообразование у бактерий

- **Определение:** *спора* – *покоящаяся форма бактерий, образующаяся при неблагоприятных условиях и способствующая сохранению генетической информации.*
- **Функция:** *защитная*
  - *от физико-химических факторов внешней среды*
  - *при дефиците питательных веществ*
- **Строение** – *ДНК, многослойная оболочка, в том числе пептидогликан (кортекс)*

# Споры и спорообразование у бактерий

## ▪ *Образуются:*

- *Во внешней среде (вне организма человека)*
- *На искусственных питательных средах*

## *Факторы обеспечивающие устойчивость к температуре:*

- *практическое отсутствие воды*
- *повышение концентрации кальция*
- *большое содержание диникотиновой кислоты*
- *строение пептидогликана кортекса*

# Споры бактерий

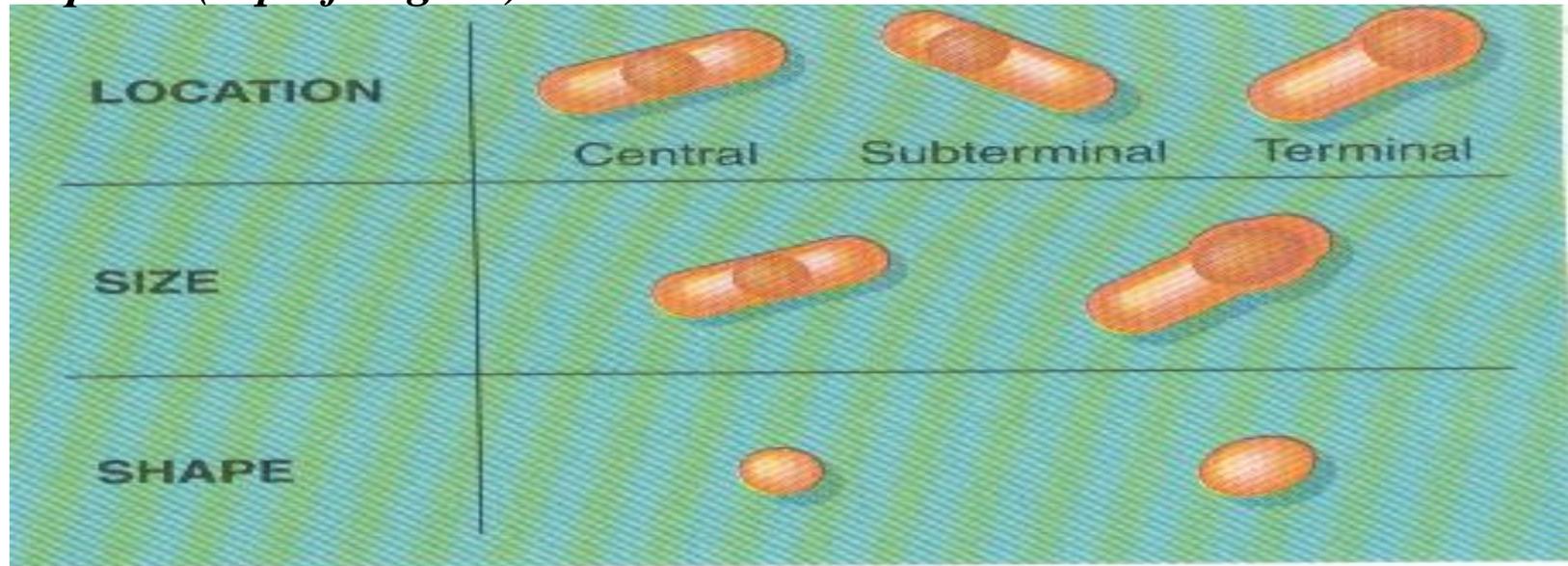
- *Форма сохранения вида в неблагоприятных условиях*
- *Процесс образования споры занимает 20-24 ч*
- *Слабая метаболическая активность*
- *Низкая проницаемость*
- *Устойчивы к кислотам, щелочам, спирту и температуре*
- *Образуется только грамположительными палочками (клостридиями и бациллами)*
- *Одна бактерия образует одну спору (споруляция)*
- *Из одной споры образуется одна бактерия (герминация)*
- *Споры могут долго сохраняться в окружающей среде*
- *В организме человека образуется только вегетативная форма, которая способна вызывать заболевание*

# Расположение спор у бактерий

**Центральное** – у возбудителя сибирской язвы (*B.antracis*)

**Терминальное** – у возбудителя столбняка (*C.tetani*)

**Субтерминальное** – у возбудителя ботулизма (*C.botulinum*) и газовой гангрены (*C.perfringens*)



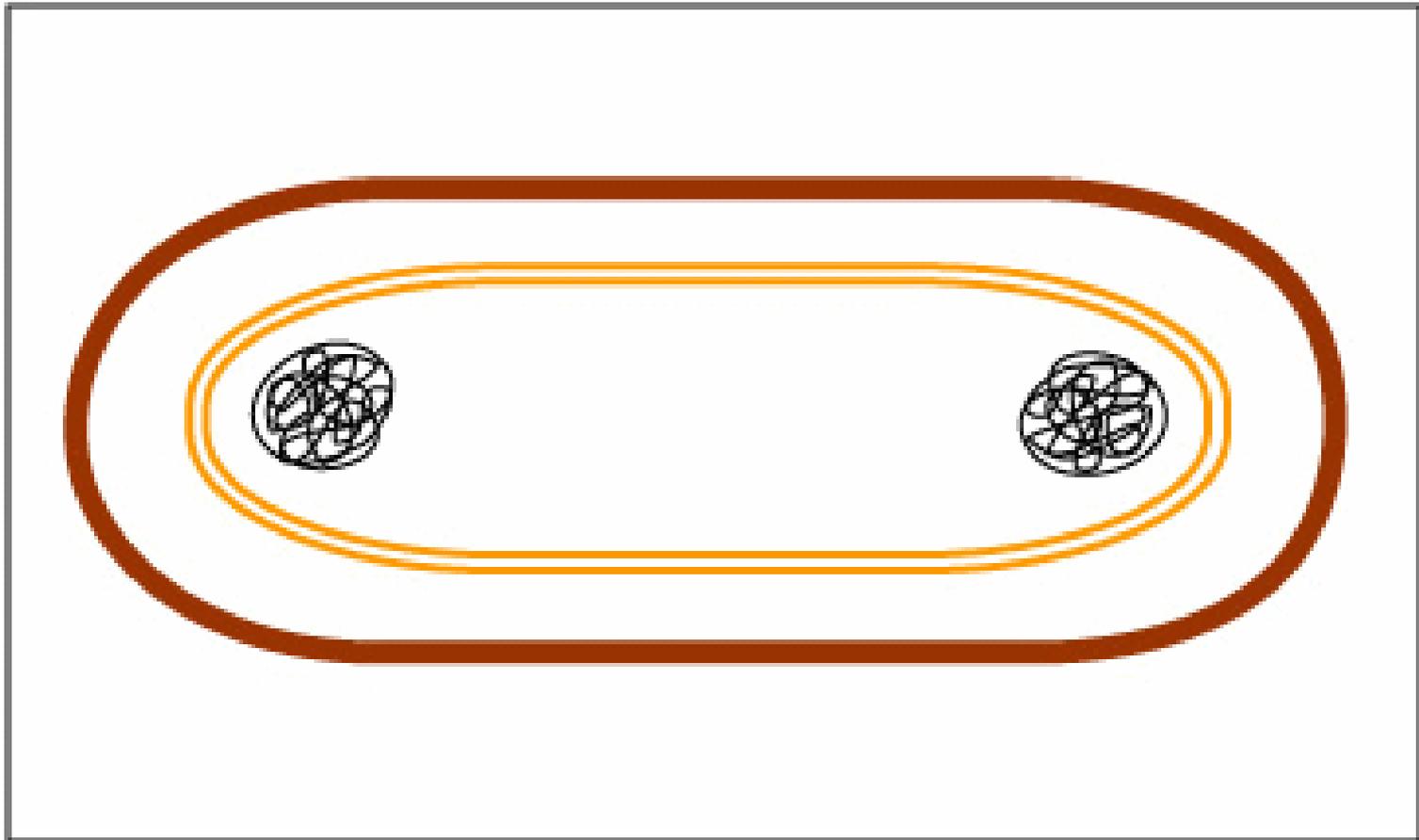
(a)



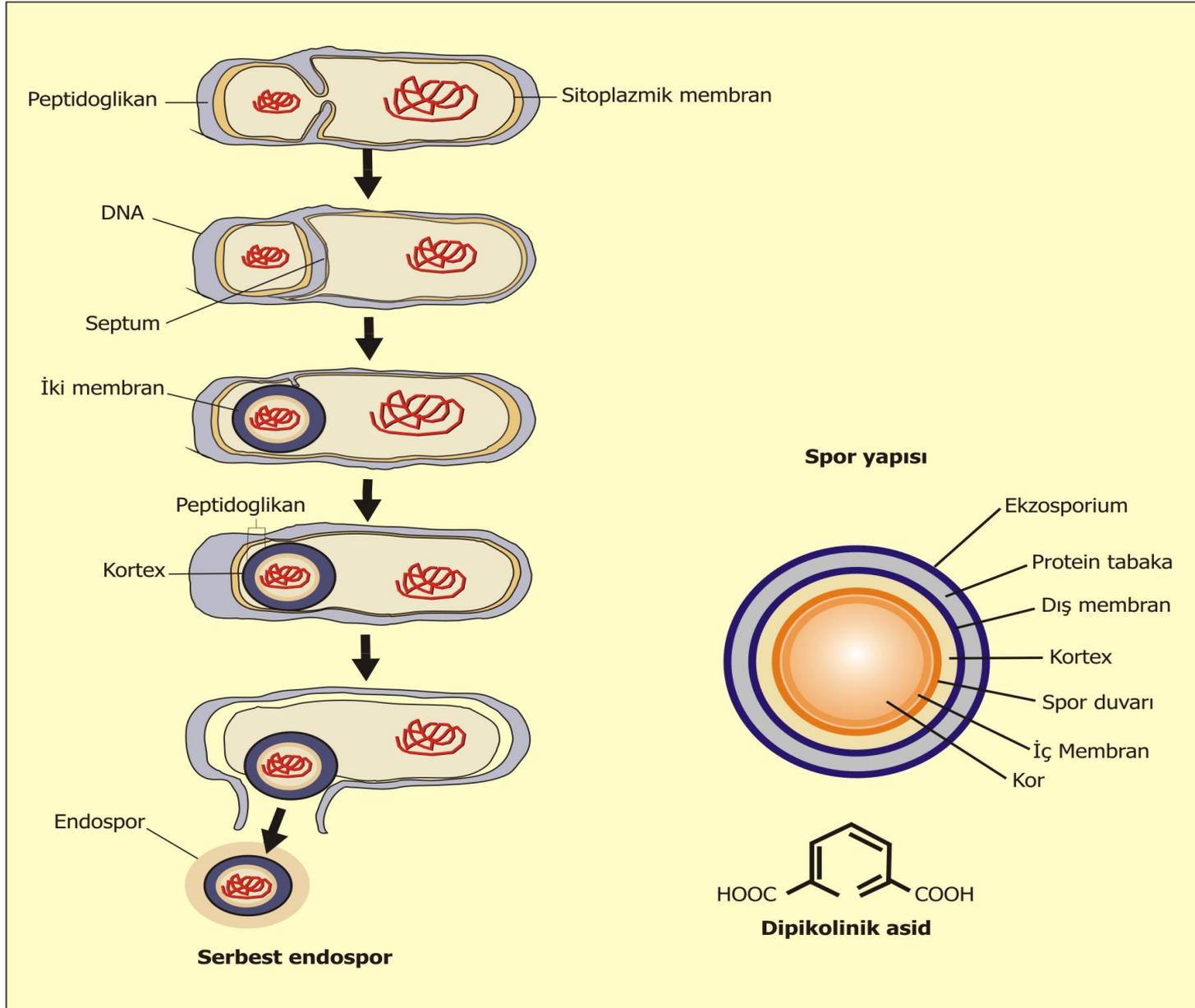
# Споруляция

- Происходит при неблагоприятных условиях (н-р, в почве)
- Продолжается примерно 20-24 ч
- Уплотнение участка клетки с протоплазмой и нуклеоидом, и образование **проспоры**
- Повышается активность ферментов
- Уникальный фермент- **дипиколинсинтетаза (5-10%)**
- Проспора содержит **кальциевую соль дипиколиновой кислоты**
- **Проспора** окружена оболочкой, содержащей пептидогликан
- Располагающийся между оболочками слой пептидогликана называется **кортекс**
- **Внешний слой** споры содержит кератиноподобные белки
- Самый поверхностный слой споры **экзоспориум** содержит липопротеины и небольшое количество углеводов

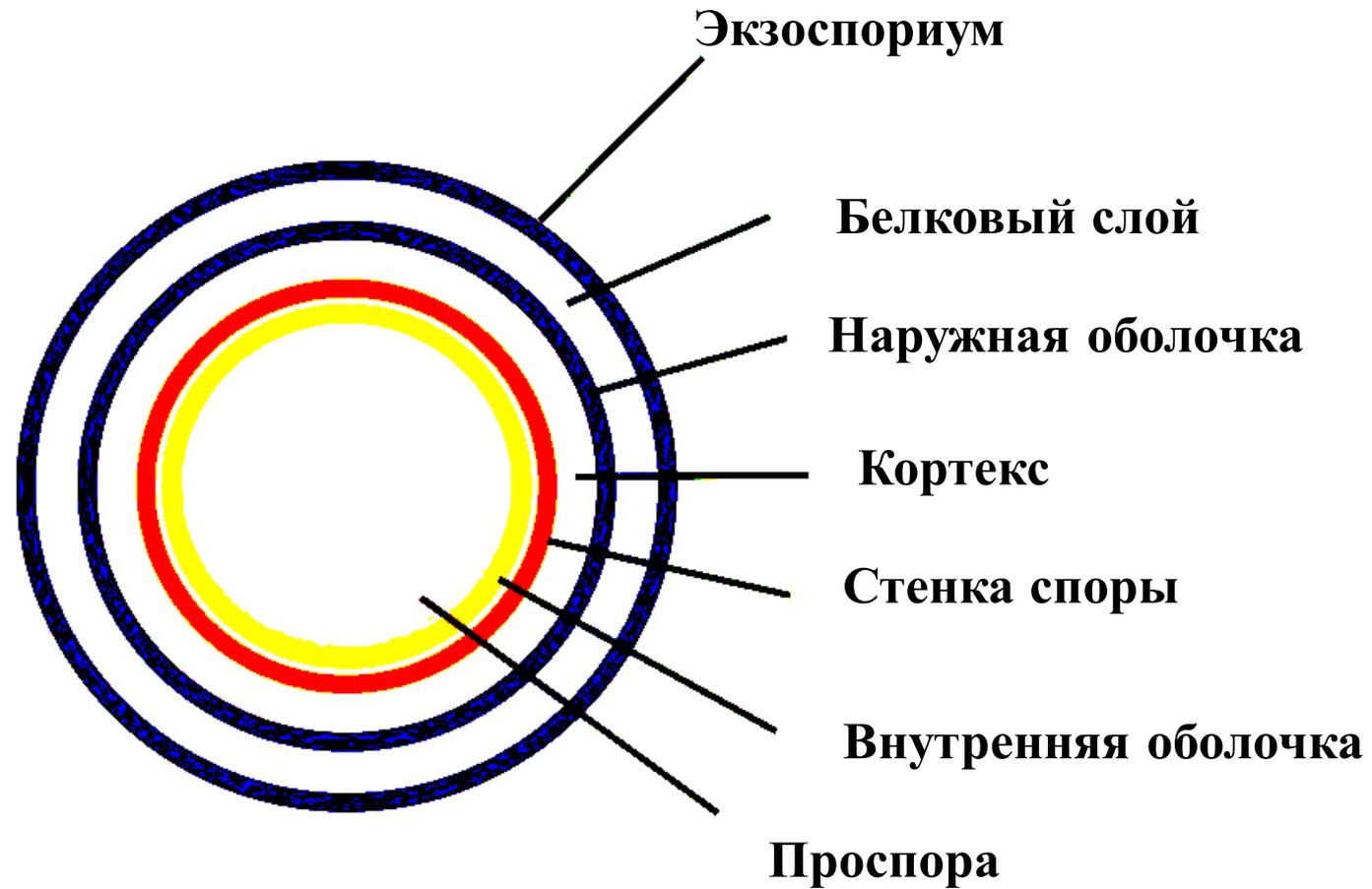
# Процесс образования споры



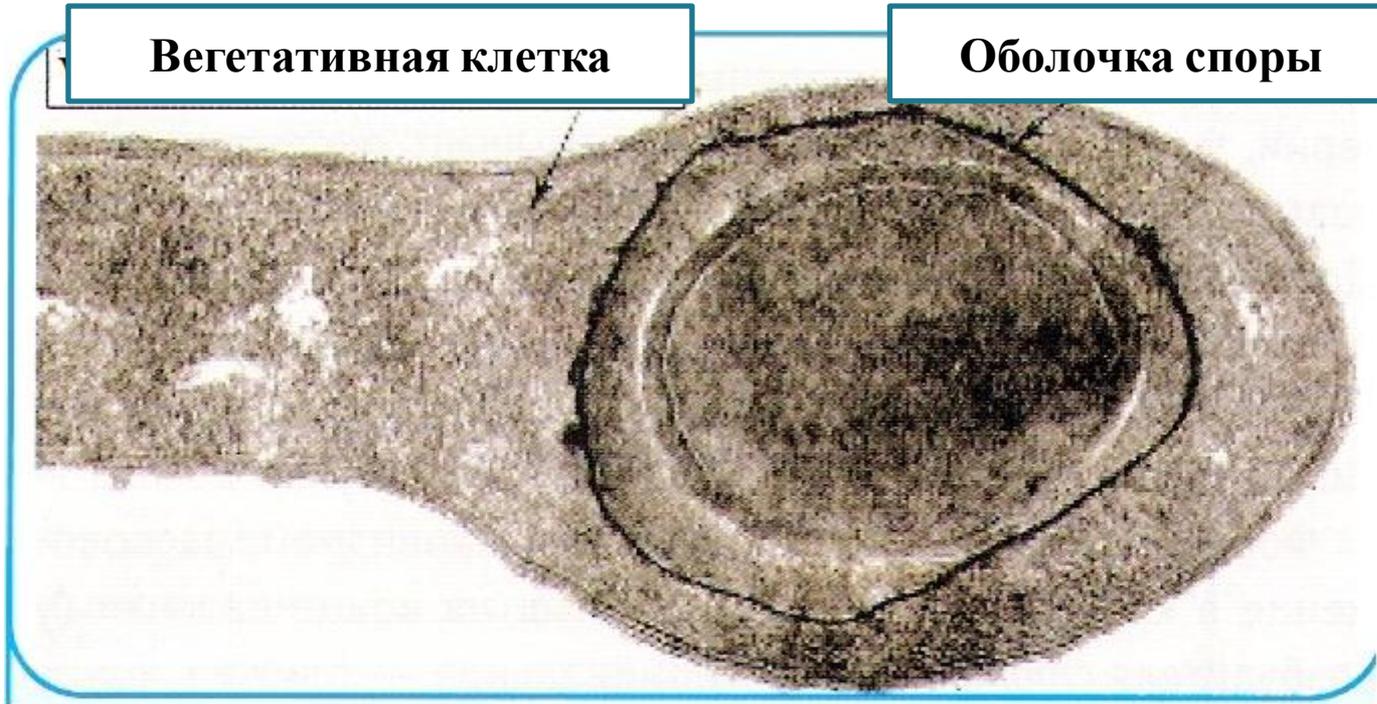
# Споруляция у бактерий



# Ультраструктура споры

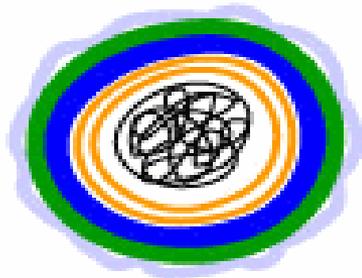


# Спора бактерий под электронным микроскопом



## Процесс герминации

*В благоприятных условиях (организме человека) споры превращаются в вегетативные клетки. Данный процесс называется герминацией, и занимает 3-5 часов. В первую очередь кортекс разрушается под действием лизоцима, происходит выход вегетативной клетки. Затем происходят процессы роста и деления клетки.*



# Методика окраски споры по методу Ожешко

*На высушенный, не фиксированный мазок наливают 0,5% р-р HCL и подогревают над пламенем горелки до появления паров (2-3мин).*

*Остатки кислоты сливают, мазок после охлаждения промывают водой, высушивают, фиксируют в пламени горелки*

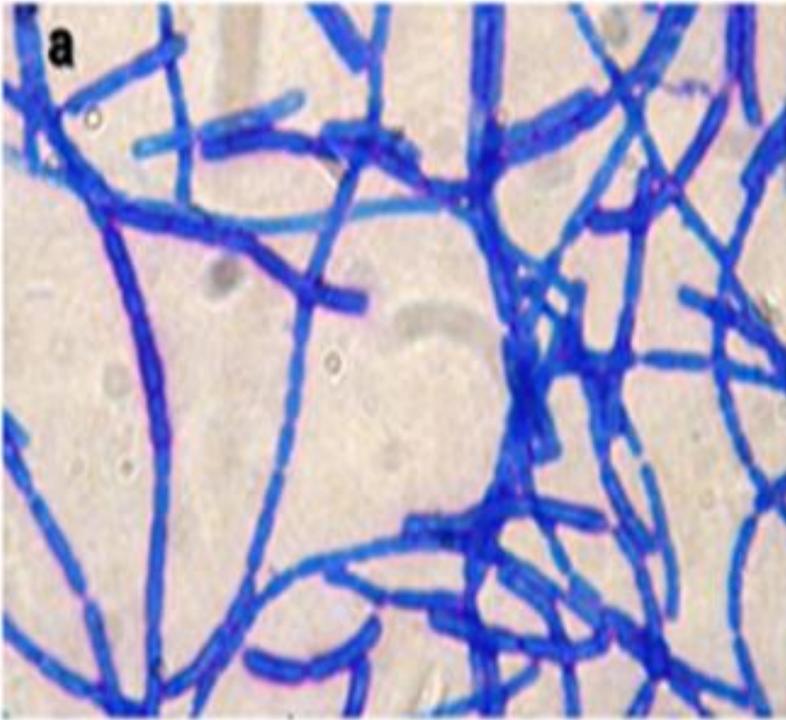
*Далее препарат окрашивается по методу Циля-Нильсена.*

*Споры окрашиваются в **красный** цвет, вегетативные клетки - в **синий**.*

*Карболовая кислота смягчает оболочку споры и повышает ее тинкториальные свойства, и обе формы окрашиваются в красный цвет. Вегетативные формы обесцвечиваются серной кислотой, и окрашиваются метиленовым синим.*

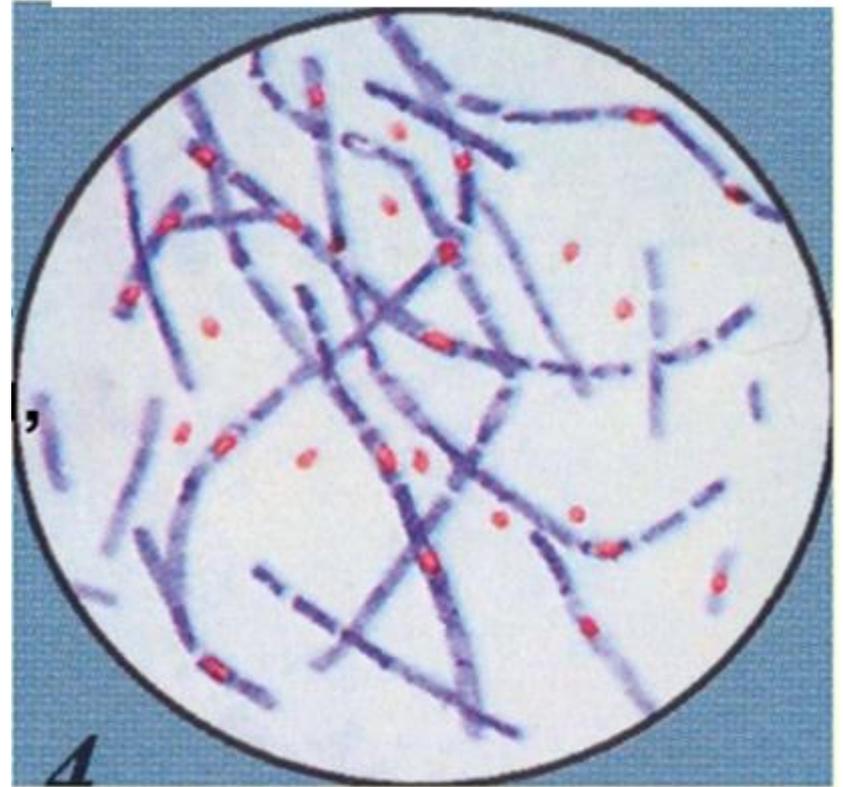
# *Bacillus anthracis*

Вегетативная клетка



*Окраска вегетативной клетки  
метиленовым синим*

спора



*Окраска споры по методу Ожешко*

# *Споры Bacillus anthracis*

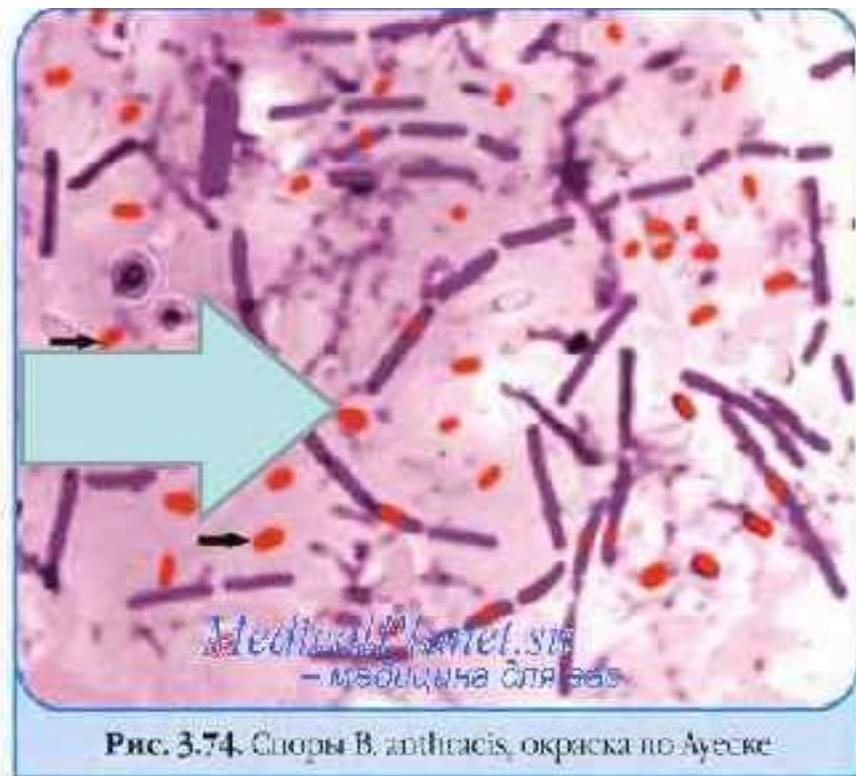
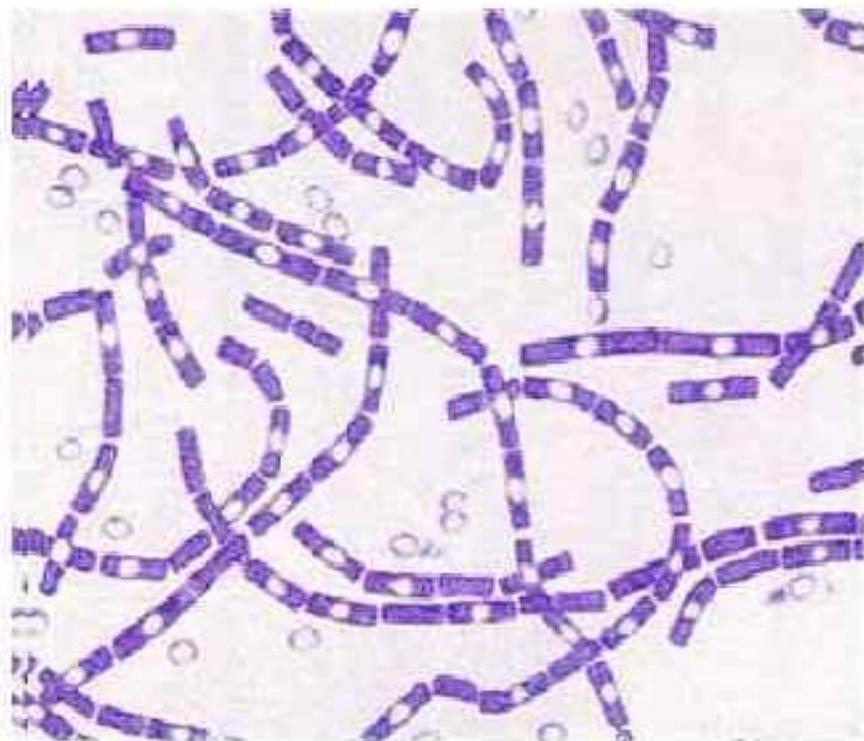
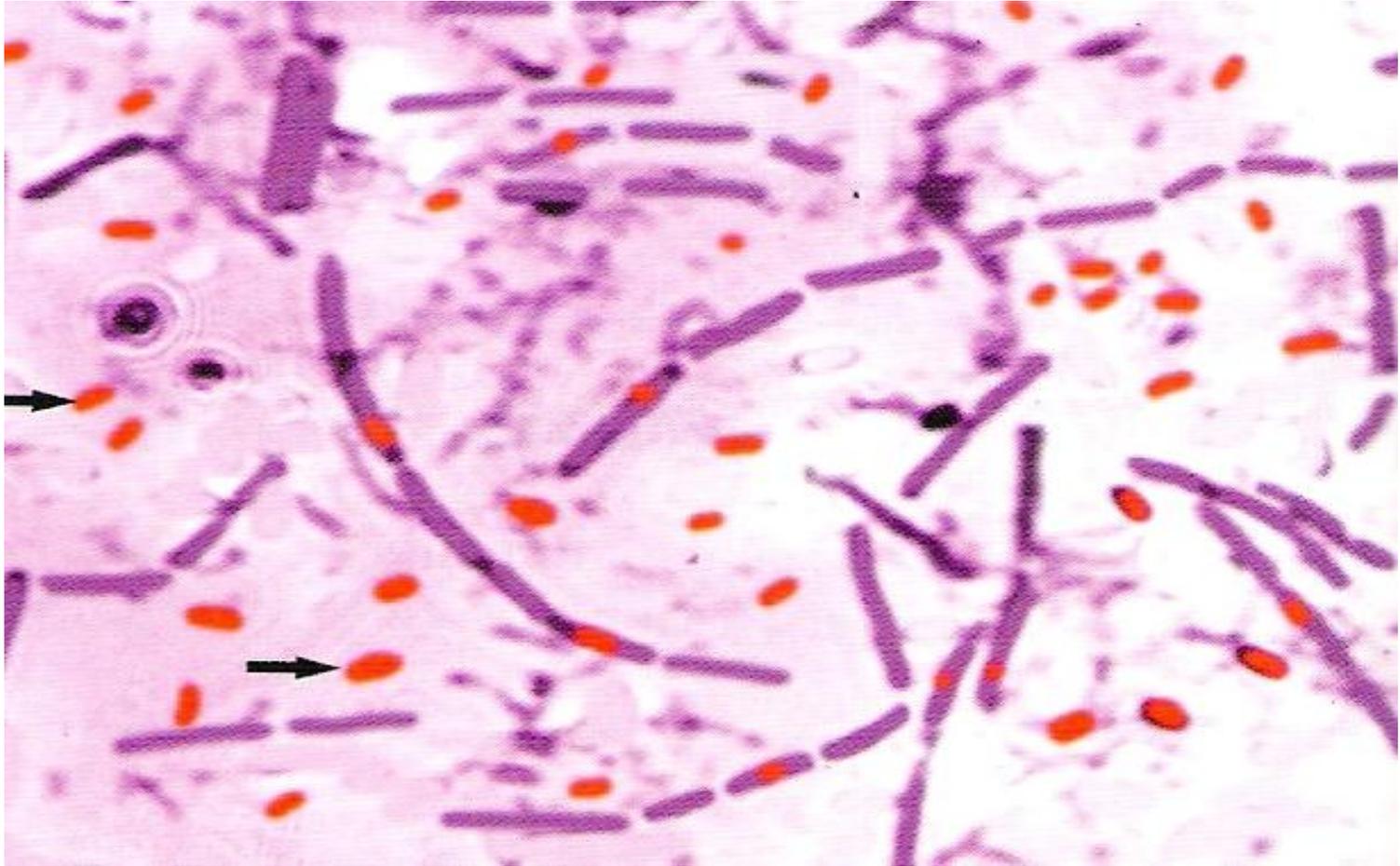


Рис. 3.74. Споры *B. anthracis*, окраска по Лoeffлеру

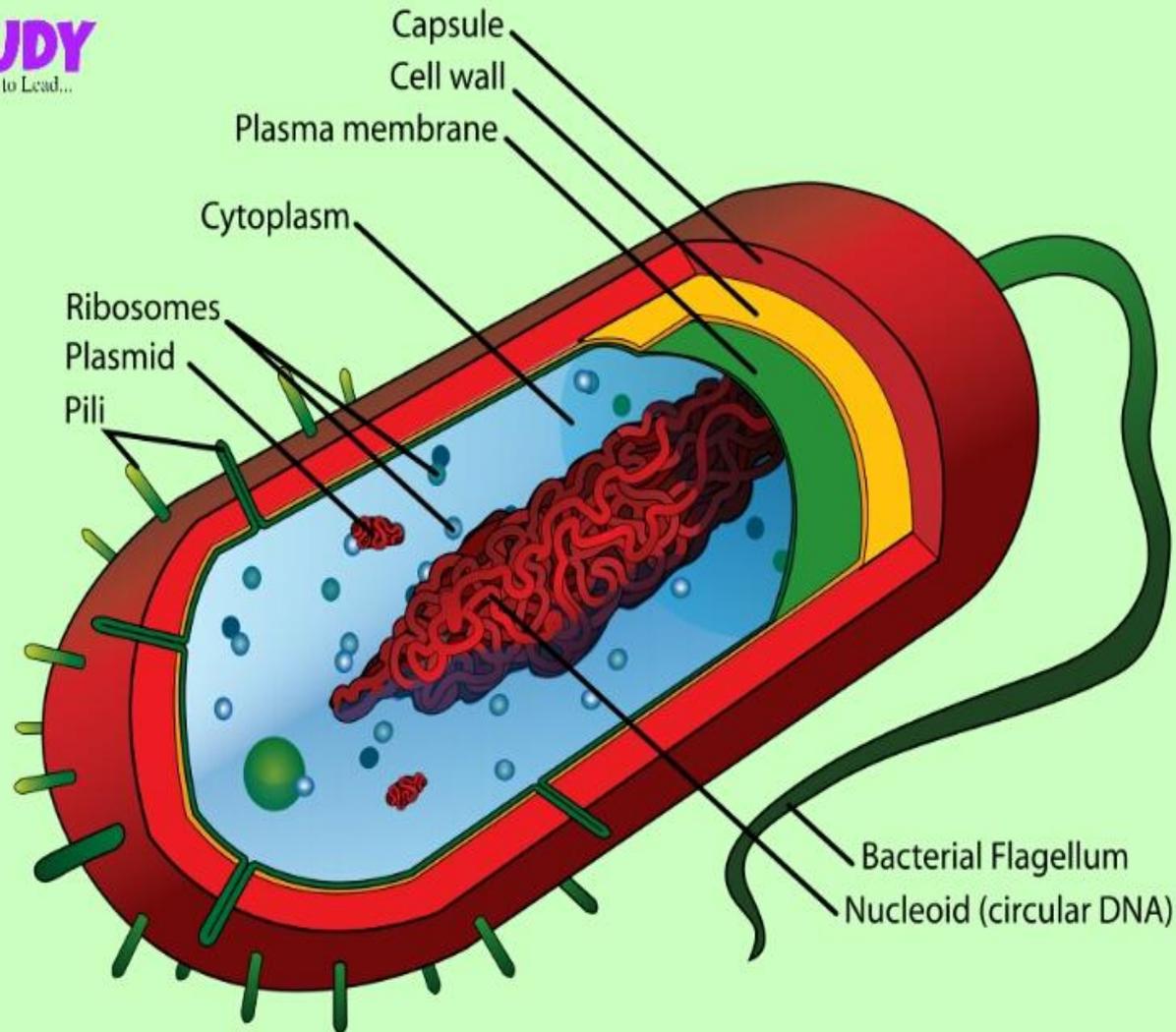
# Микроскопическое изображение мазка, окрашенного по методу Ожешко



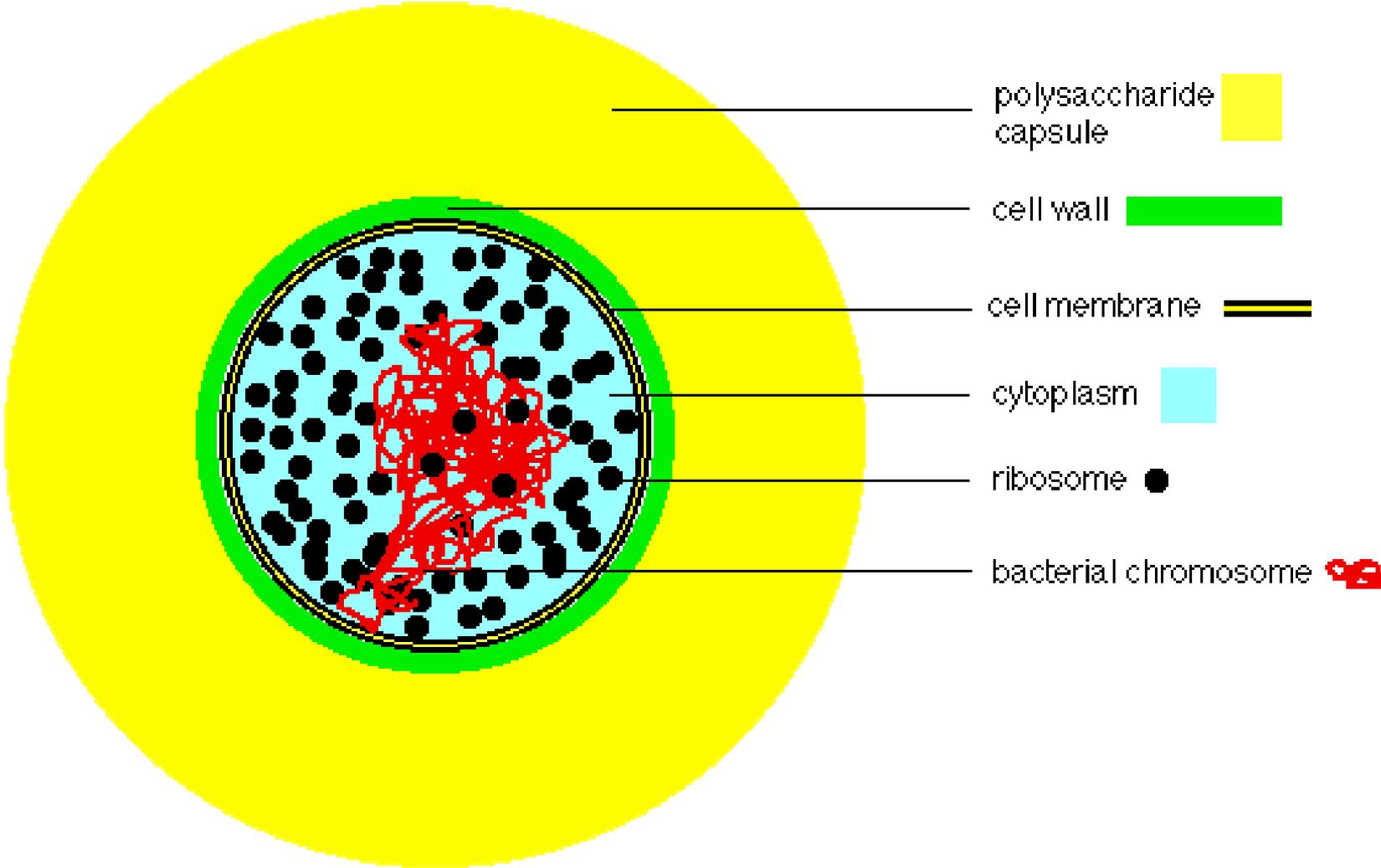
# Капсула

- ✓ Слизистая структура, прочно связанная с клеточной стенкой бактерий.
- ✓ Защищает от воздействия факторов внешней среды
- ✓ Образуемая в организме людей и животных капсула, препятствует действию защитных факторов
- ✓ Участвует в адгезии микробов
- ✓ Капсула обладает антигенностью, в организме образуются антитела к капсуле
- ✓ “К”-антиген используется при идентификации капсульных бактерий
- ✓ Мукоидные экзополисахариды, не имеющие четких внешних границ образуют **слизь**
- ✓ Экзополисахариды, участвующие в адгезии бактерий называют **гликокаликсом**

# Ультраструктура бактериальной клетки



# Anatomy of a Bacterial Cell



## Химический состав капсулы

**Полисахариды** – *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella*

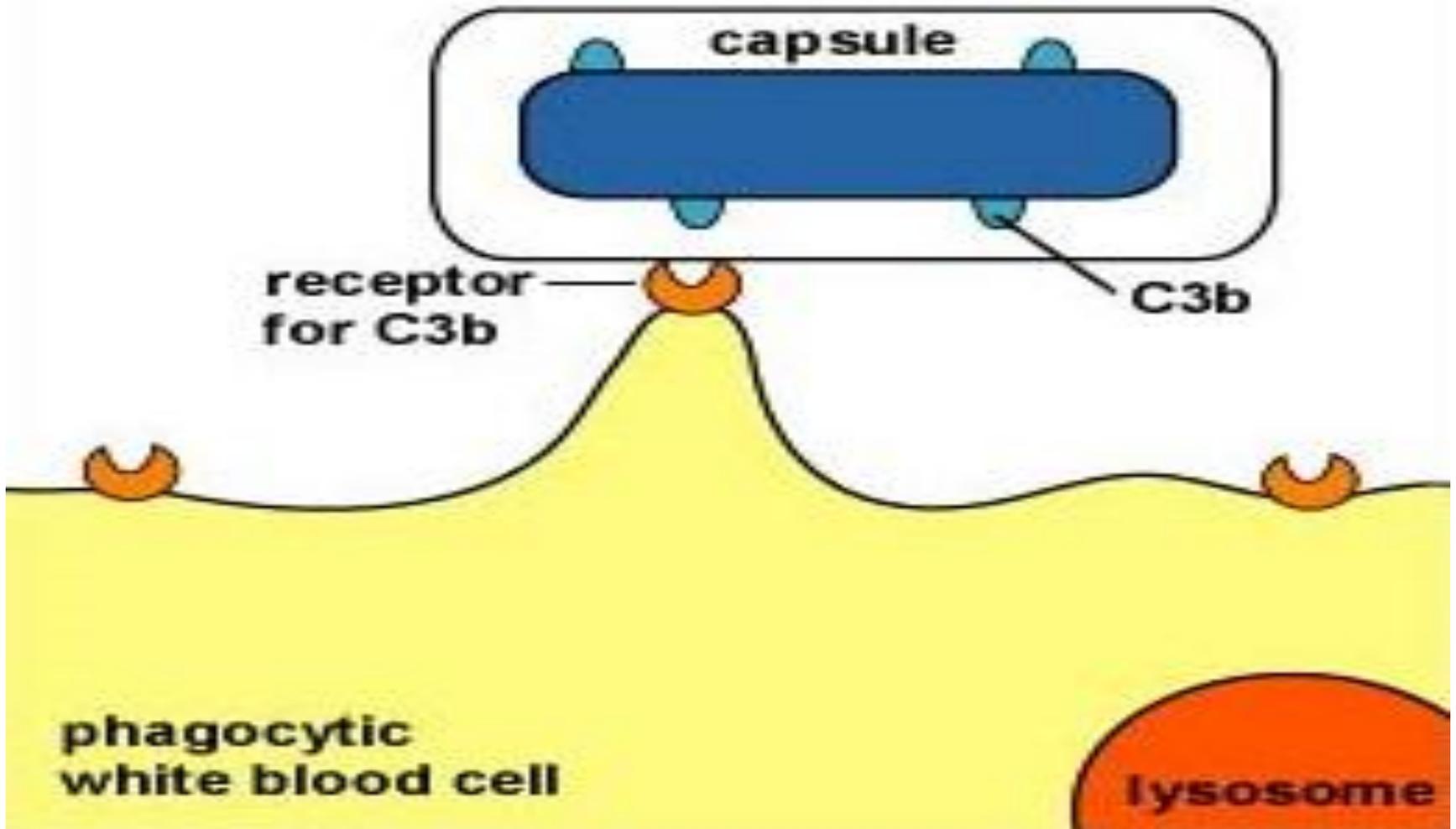
**Белки** - *Bacillus anthracis*, *Yersinia pestis*

**Гиалуроновая кислота**- *Streptococcus pyogenes*

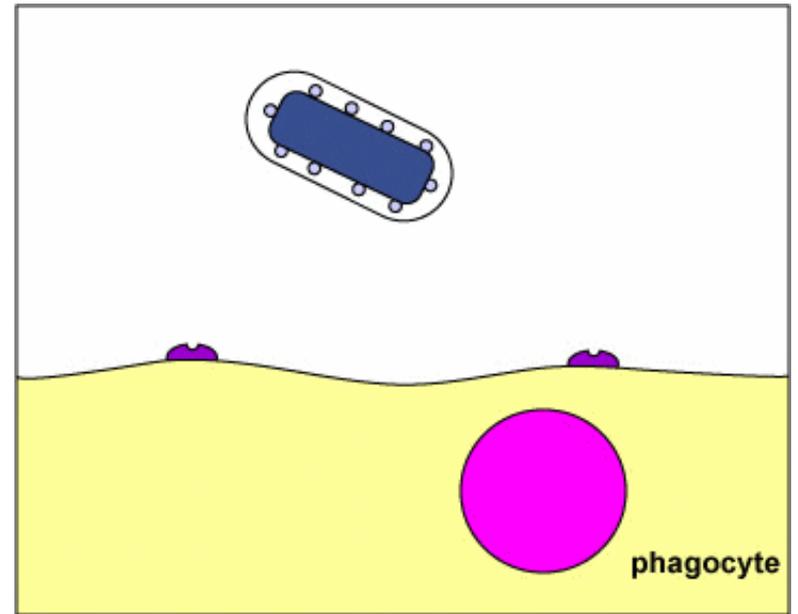
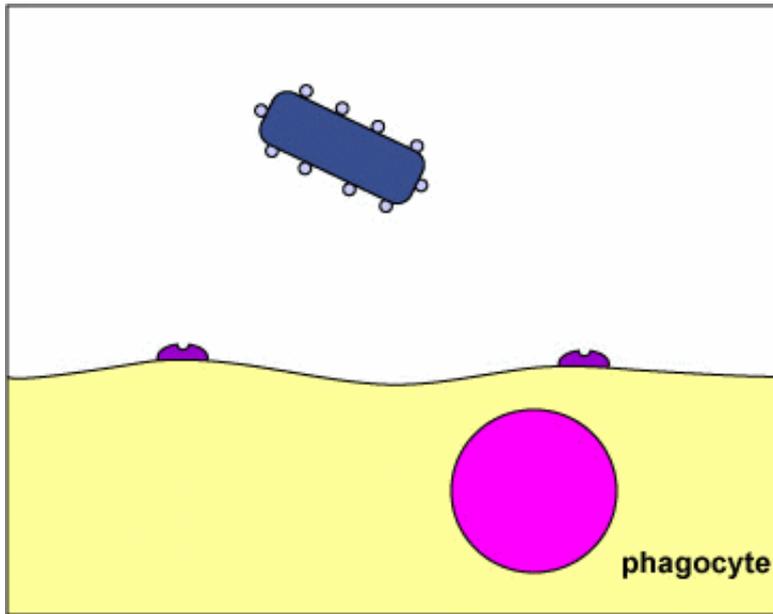
## Бактерии, образующие капсулу

- *S.aureus, S. pyogenes, S.pneumoniae, B.anthraxis, C.perfringens* образуют капсулу только в макроорганизме
- Образуют капсулу в макроорганизме и на питательных средах - бактерии рода *Klebsiella*

# Капсула как фактор патогенности



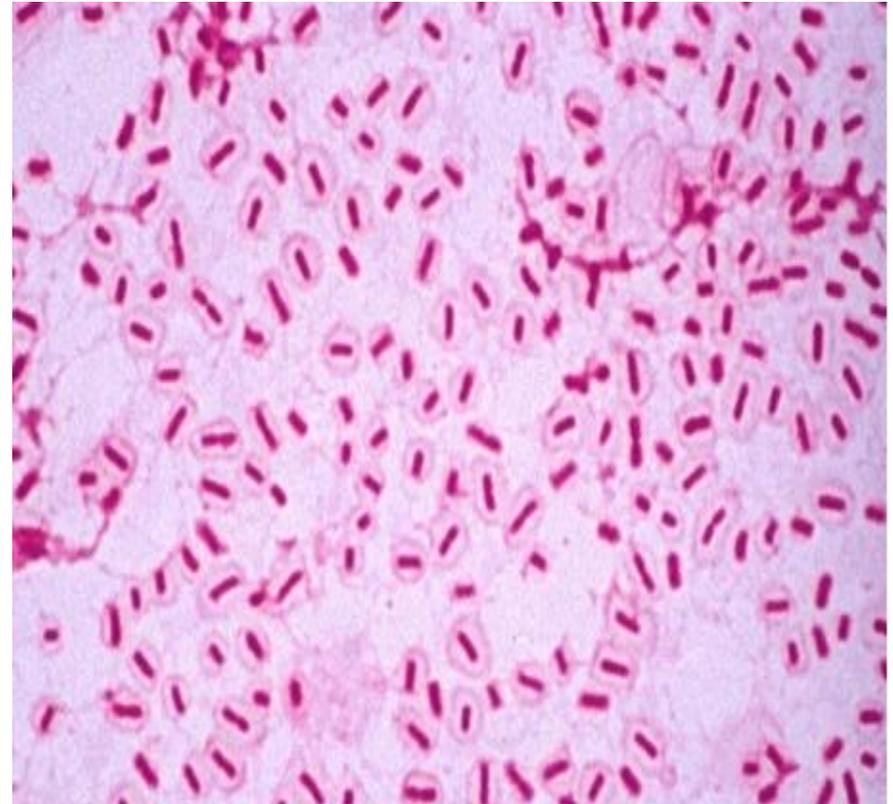
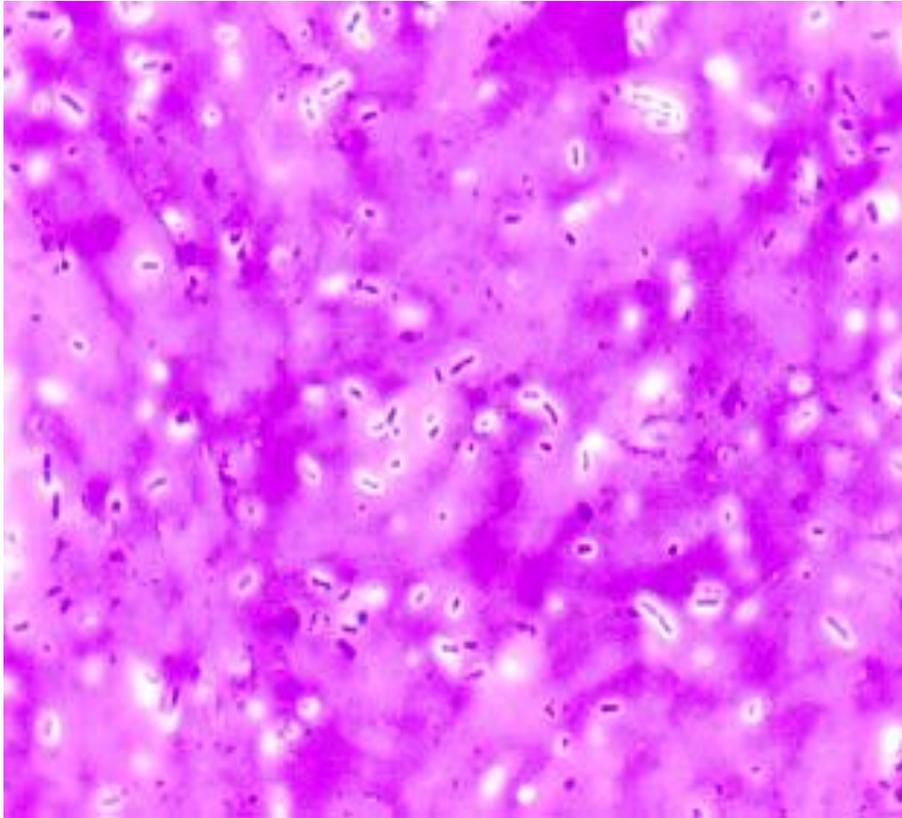
# Роль капсулы в защите от фагоцитоза



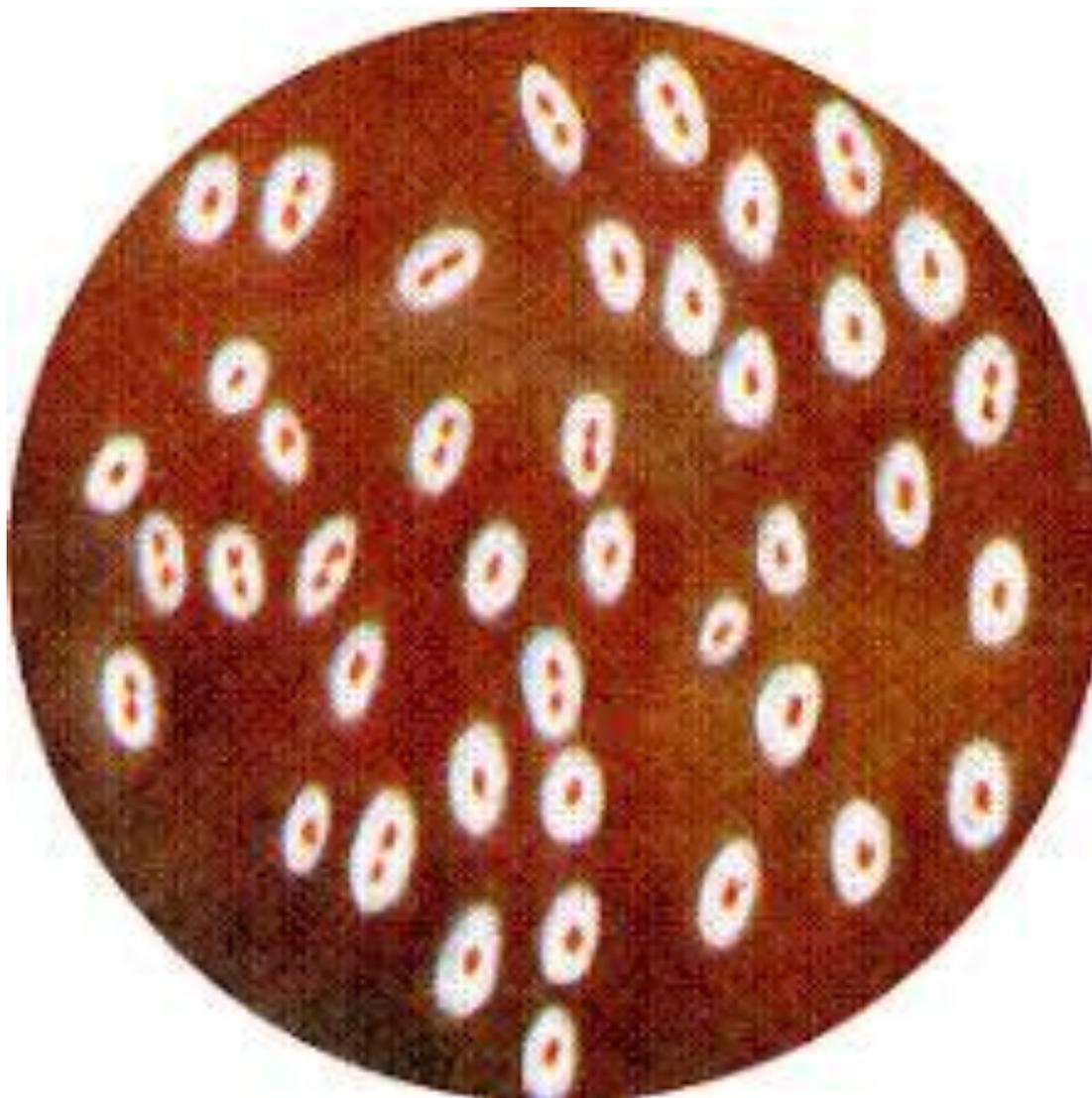
# Выявление капсулы по методу Бурри-Гинса

- *На предметное стекло наносят каплю черной туши с которой смешивают культуру бактерий, и затем распределяют при помощи второго предметного стекла, которое держат под углом 45°.*
- *Мазок высушивают и фиксируют физико-химическим методом*
- *Наносят карболовый фуксин Циля на 3-5 мин, промывают и микроскопируют*
- *В препарате видны бактерии красного цвета, вокруг которых контрастно выделяются неокрашенные капсулы на черном фоне*

# Микроскопическая картина мазка, окрашенного по методу Бурри-Гинса



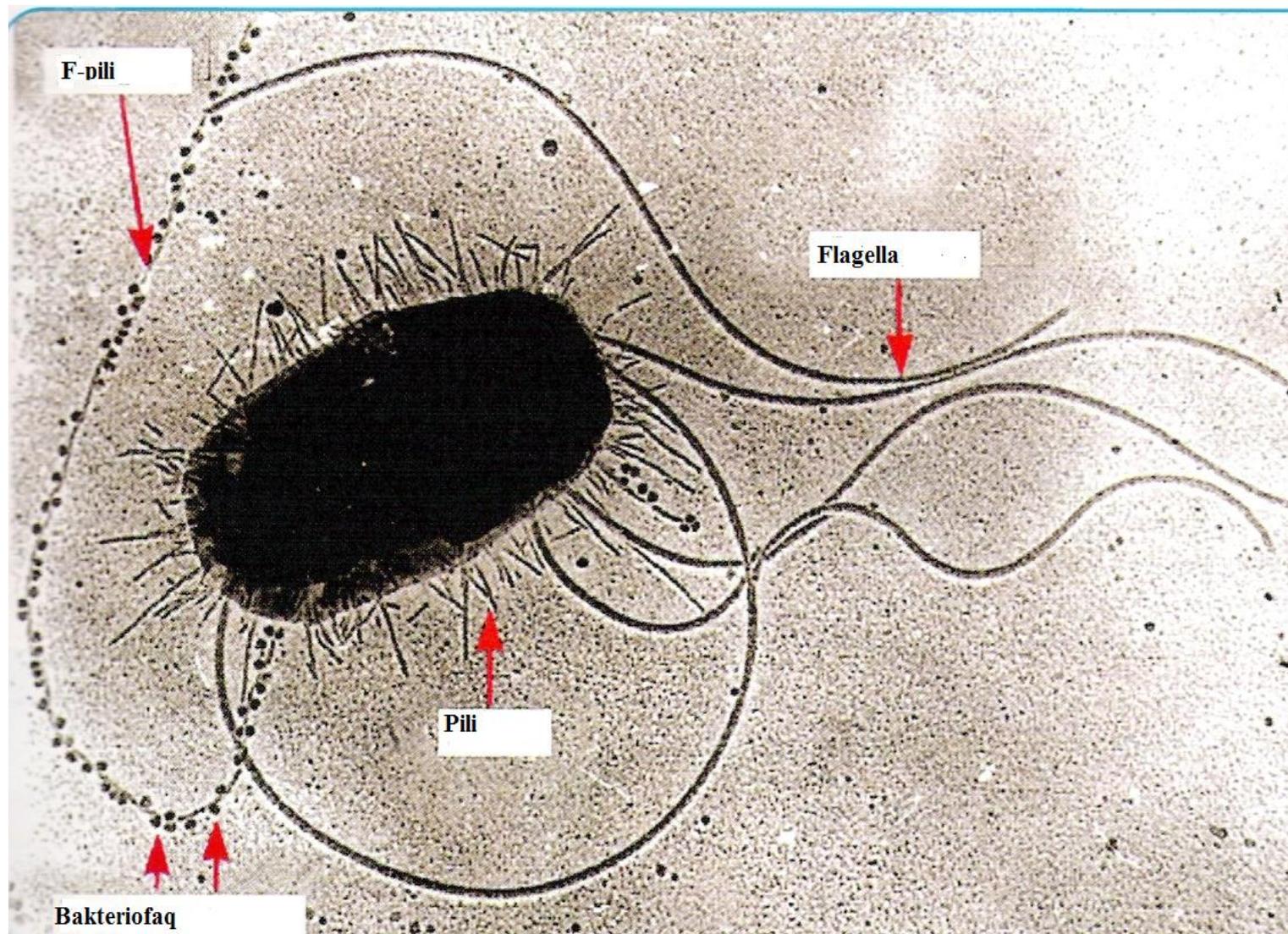
# Микроскопическая картина мазка, окрашенного по методу Бурри-гинса



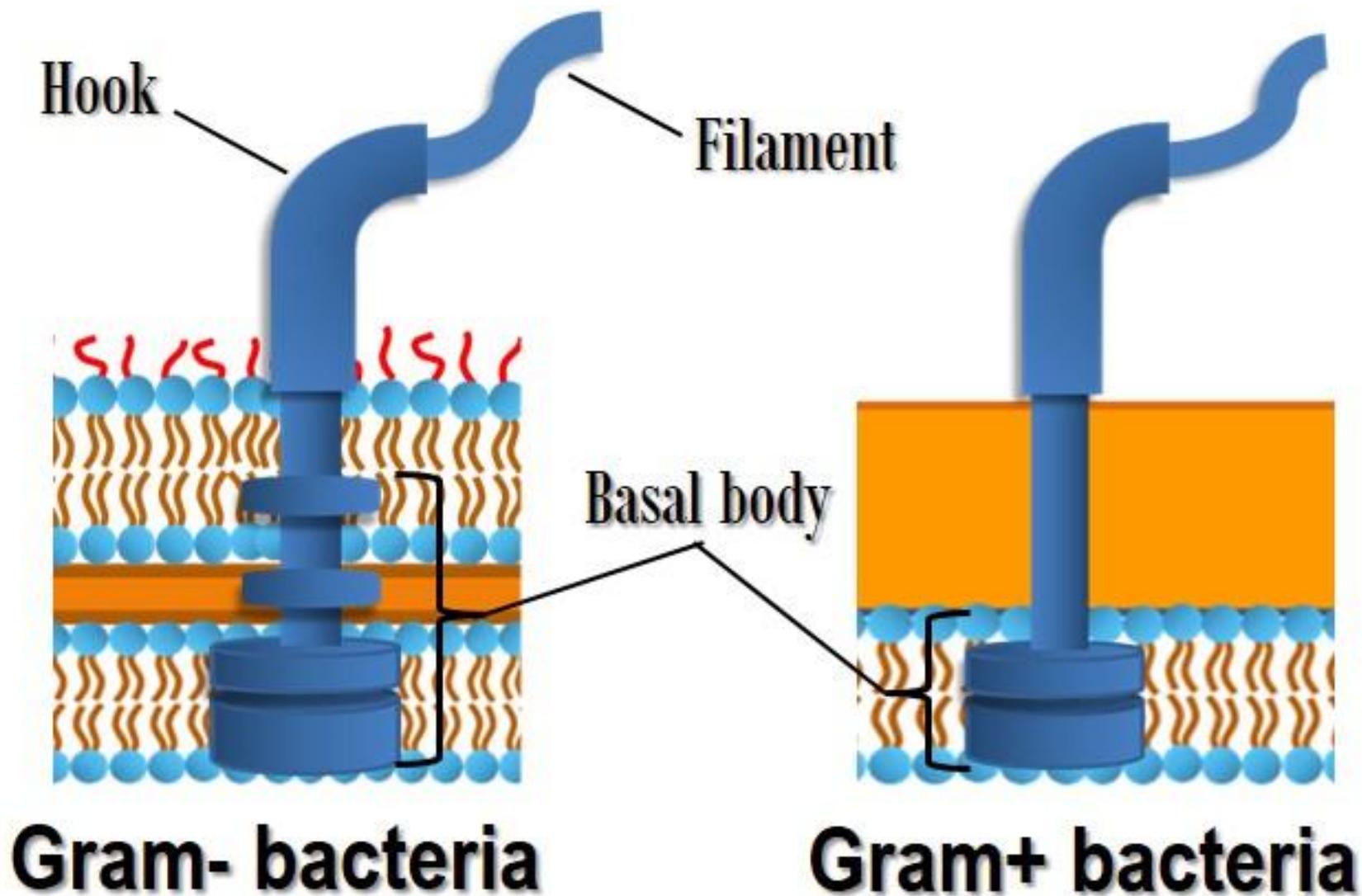
# Жгутики

- ✓ Орган подвижности, состоящий из белка флагеллина
- ✓ Обуславливает подвижность палочковидных и спиралевидных бактерий
- ✓ Прикрепляется к цитоплазматической мембране базальным тельцем
- ✓ Базальное тельце содержит стержень со специальными дисками - одна пара дисков у грам(+), и две пары у грам (-) бактерий
- ✓ Флагеллин является антигеном (H-антиген), субъединицы флагеллина закручены в виде спирали
- ✓ В движении спирохет участвуют **фибриллы**, прикрепленные к концам клетки и направленные навстречу друг другу (эндофлагеллы)

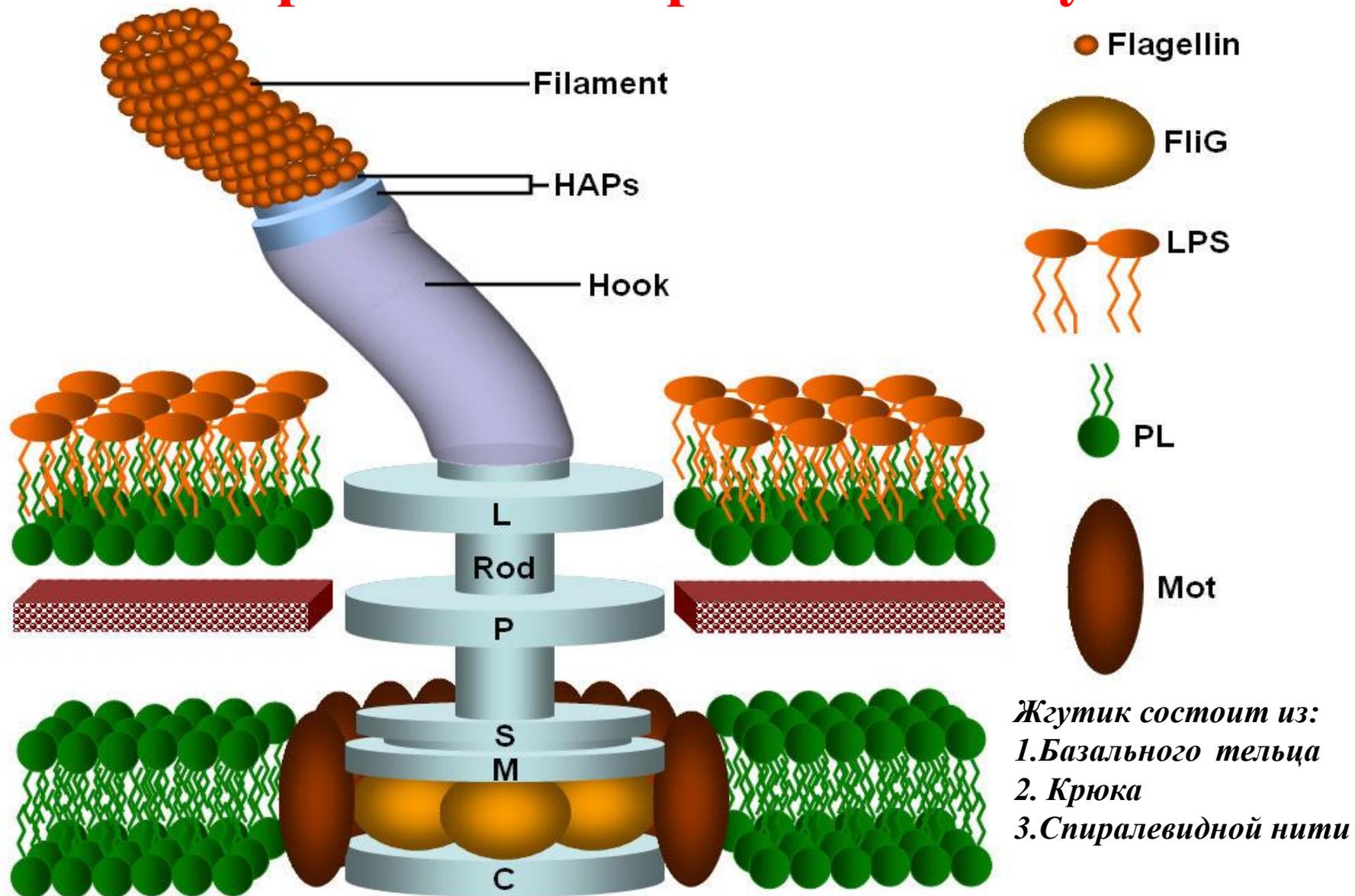
# Жгутики и пили бактерий



# СТРОЕНИЕ ЖГУТИКОВ ГРАМ(-) И ГРАМ (+) БАКТЕРИЙ



# Схема строения бактериальных жгутиков



# По расположению жгутиков различают

<i>Атрих</i>	<i>Shigella, Klebsiella, Acinetobacter</i>
<i>Монотрих</i>	<i>Campylobacter, V.cholera, Pseudomonas</i>
<i>Лофотрих</i>	<i>Helicobacter</i>
<i>Амфитрих</i>	<i>Spirillum</i>
<i>Перитрих</i>	<i>E.coli, Proteus, Salmonella</i>

# Расположение жгутиков

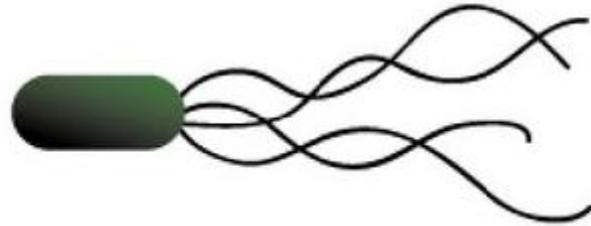
## Монотрихи

*Vibrio, Caulobacter*



## Лофотрихи

*Pseudomonas, Chromatium*



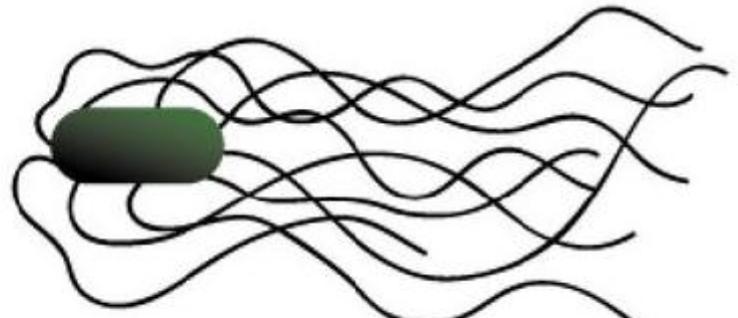
## Амфитрихи

*Spirillum*



## Перитрихи

*Escherichia, Proteus*

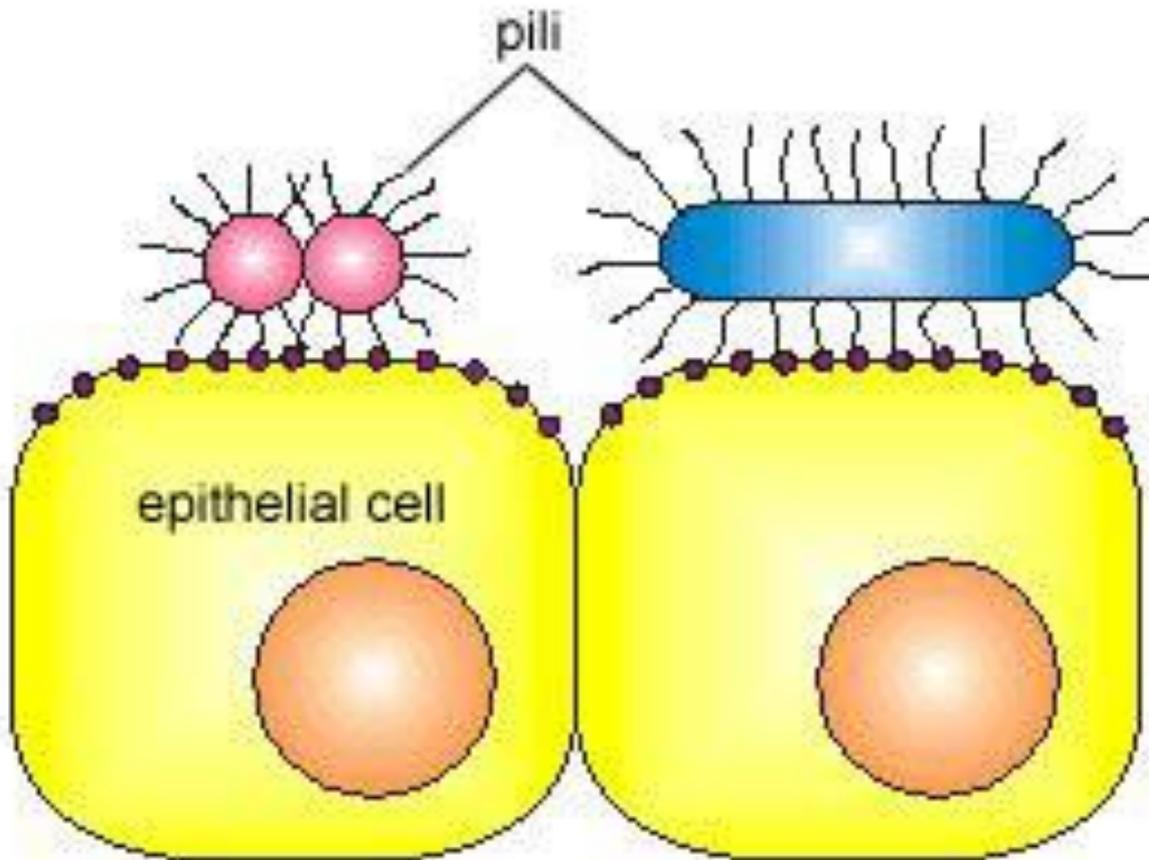


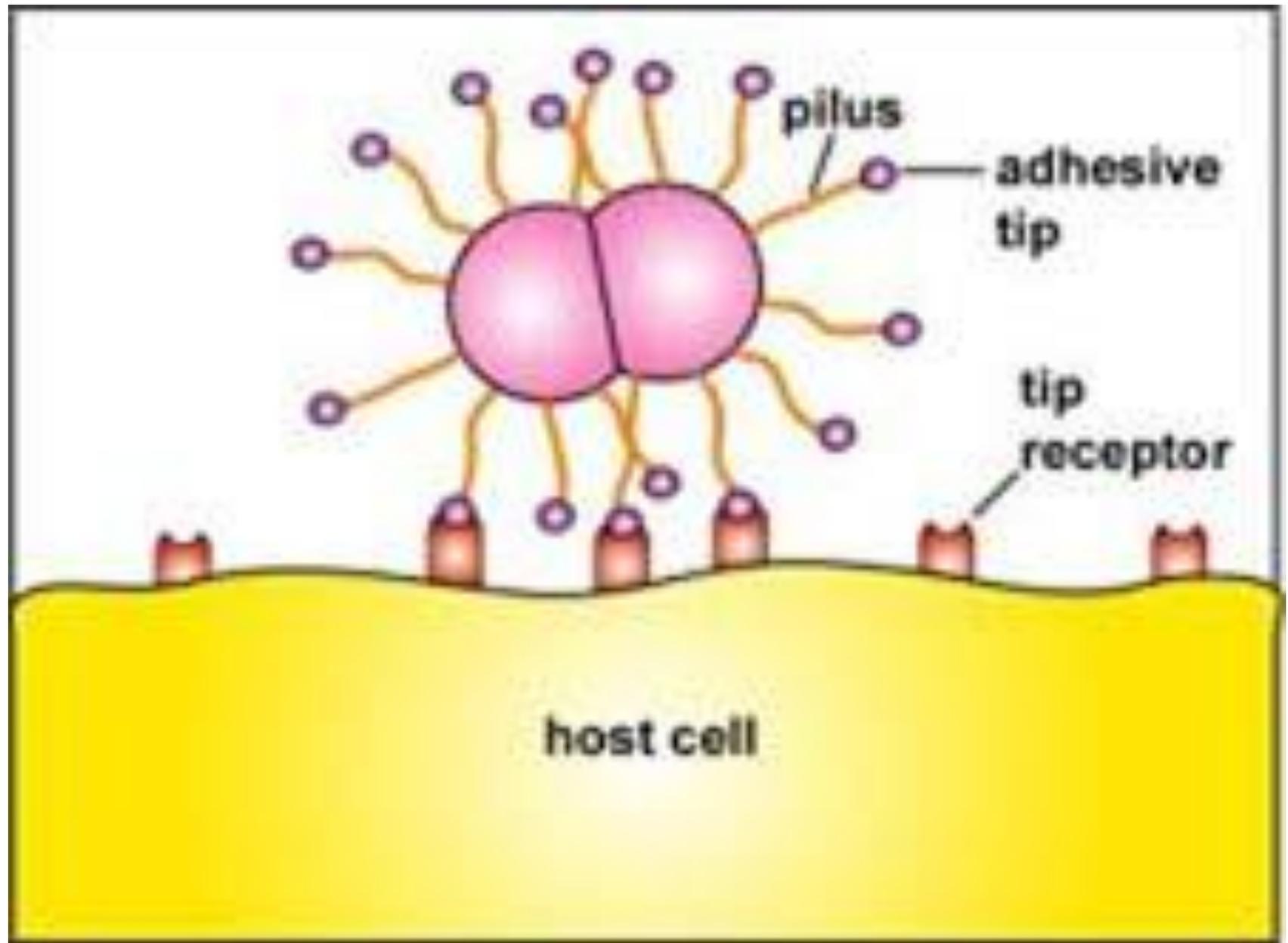
# Пили (фимбрии, микроворсинки)

- *Состоят из белка пилина*
- *Отходят от цитоплазматической мембраны*

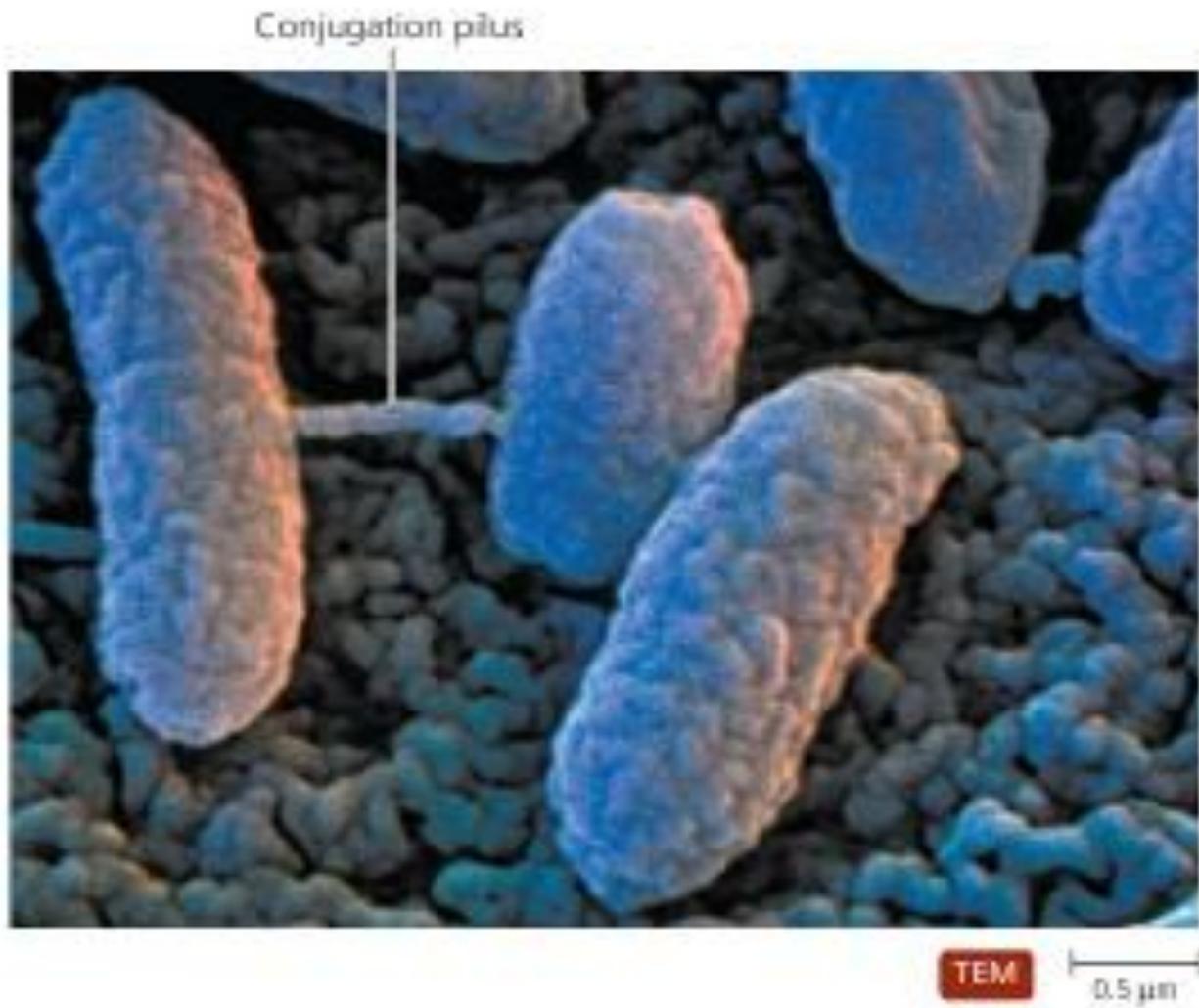


# Адгезивные пили - как фактор патогенности





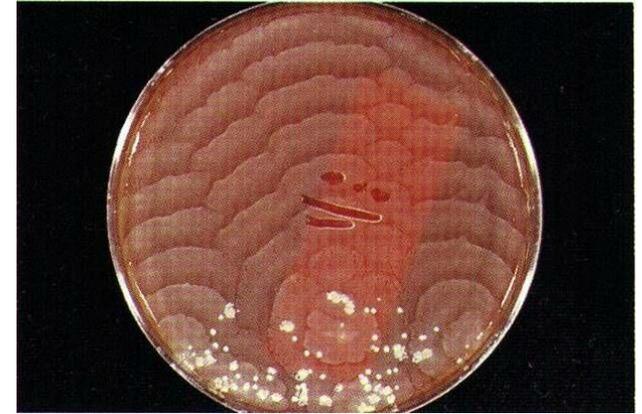
# Конъюгативные пили бактерий



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

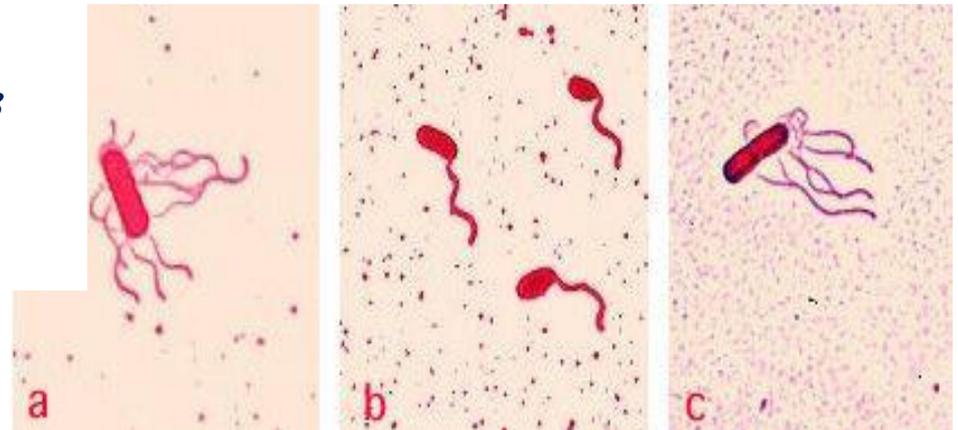
# Изучение подвижности бактерий

- *Прямой метод* → “феномен роения”
- *Метод Шукевича* - применяется для получения чистой культуры протей и других микроорганизмов обладающих «ползущим» ростом.



Proteus spp.

1. *Препараты “раздавленная и висячая” капля*
2. *Витальная окраска*
3. *Метод Леффлёра* – протравливание смесью растворов фуксина, танина и раствора сернокислого Fe и докрасивание карболовым фуксином



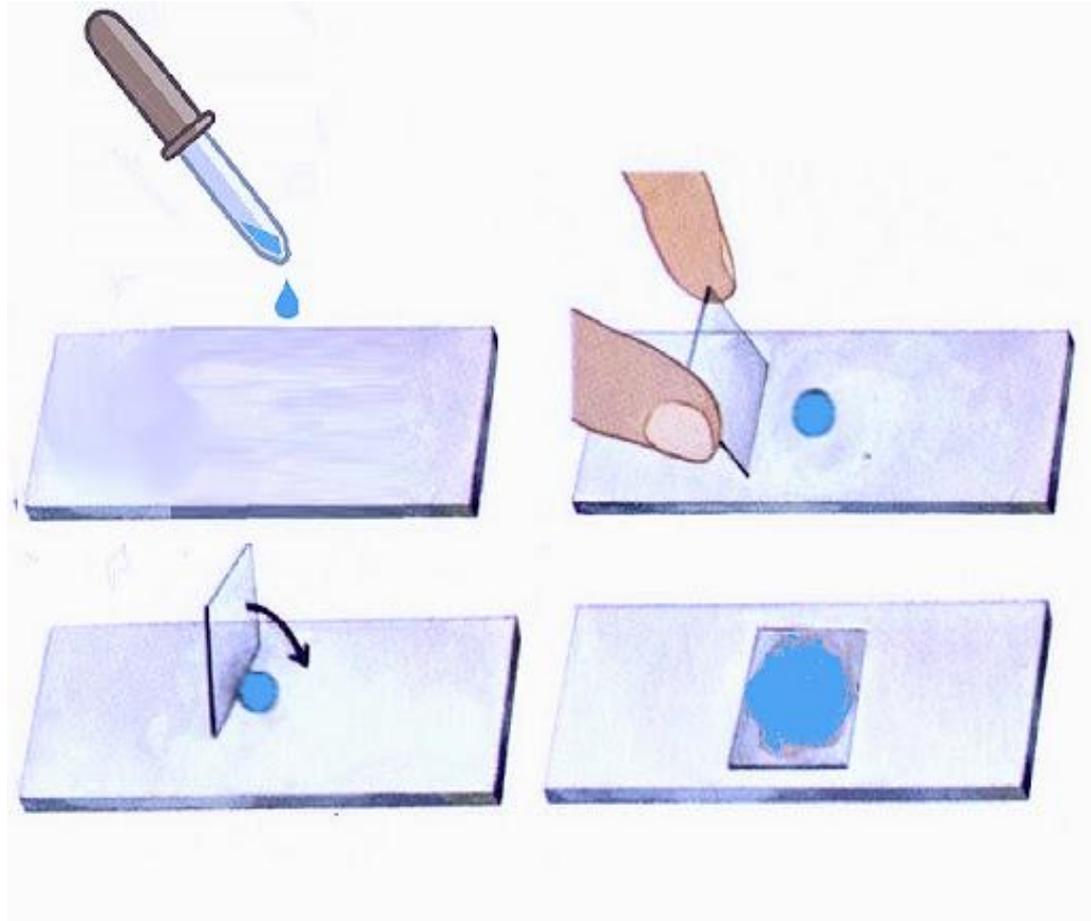
B. cereus

V. cholerae

B. brevis

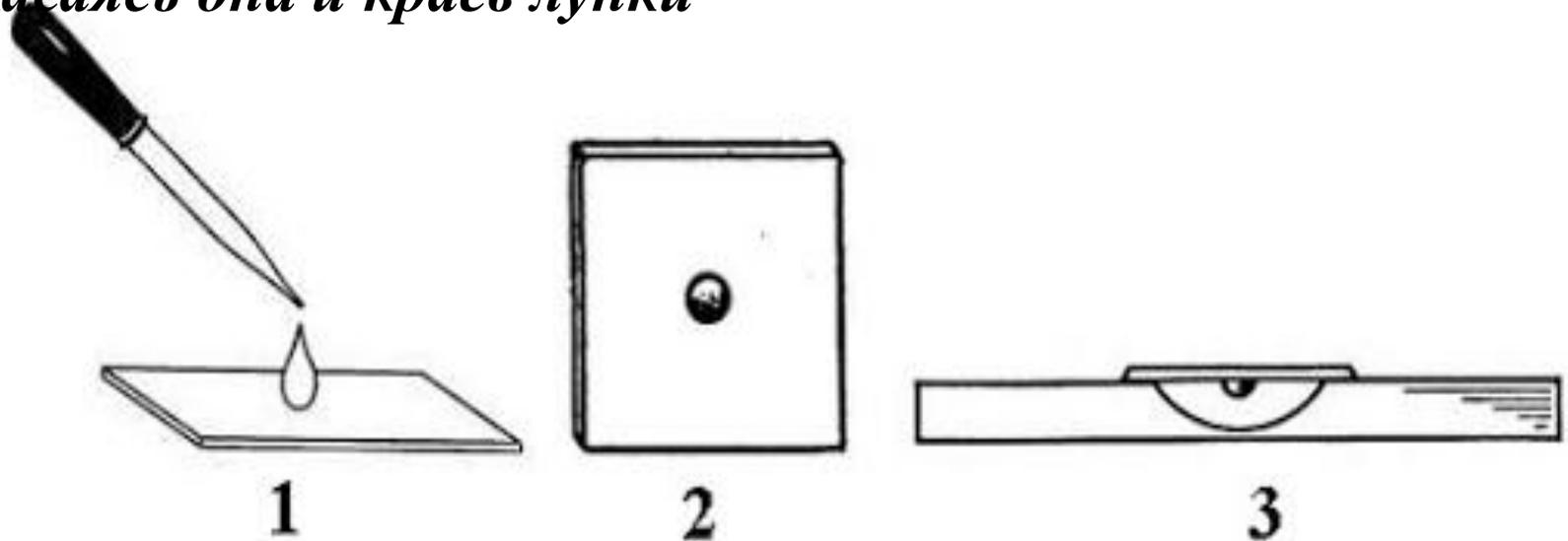
# Приготовление препарата «висячая капля»

**Препарат «раздавленная» капля** готовят для изучения подвижности. На середину предметного стекла наносят каплю исследуемого материала и накрывают покровным стеклом. **Приготовленные препараты рассматривают в затемненном поле зрения светового микроскопа**

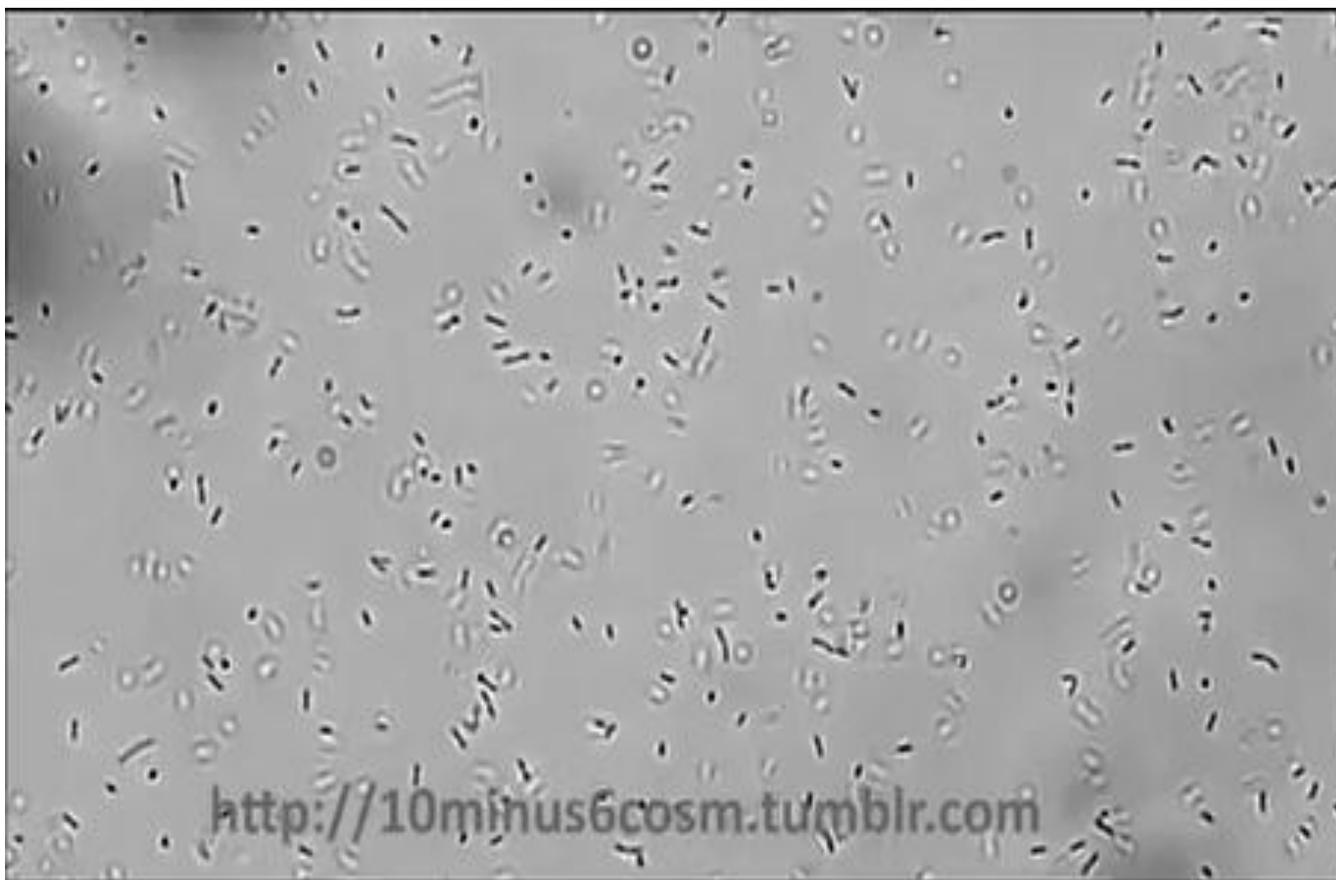


## Препарат «висячая» капля

- 1-2. Небольшую каплю исследуемого материала наносят на покровное стекло*
- 3. Предметным стеклом с лункой покрывают покровное стекло и быстро переворачивают препарат покровным стеклом вверх. В этом случае капля свободно свисает не касаясь дна и краев лунки*



# Микроскопическая картина препарата «раздавленная» капля



# Витальная окраска

- *Витальное окрашивание используется для изучения живых бактерий.*
- ✓ *Размножение микроорганизмов*
- ✓ *Спорообразование*
- ✓ *Влияние физических и химических факторов*
- *Используют 10000, 100000-ые разведения растворов метиленового синего и нейтрального красного*

# Деление бактерий. Витальная окраска

