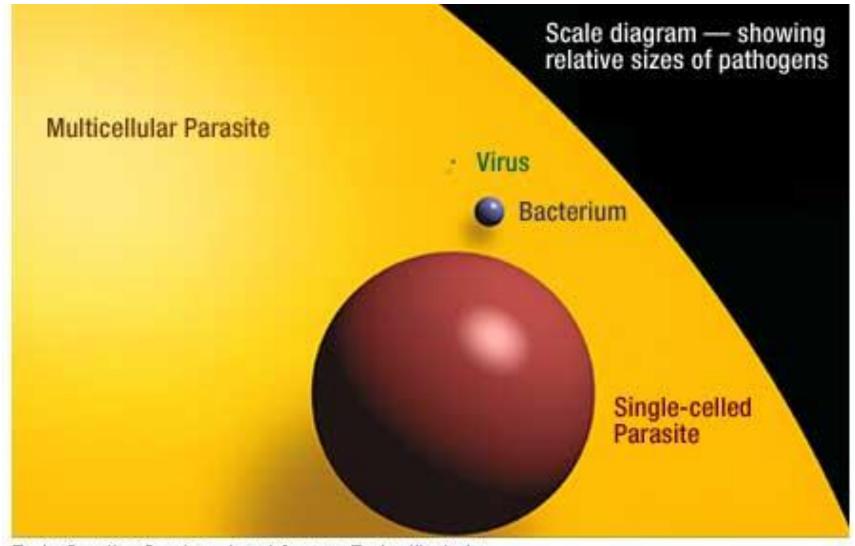
## Основы микробиологии и иммунологии

### Определение терминов «микробиология» и «микроорганизм»

• Микробиология - наука, изучающая микроорганизмы.

• Микроорганизмы - организмы, невидимые невооружённым взглядом (микроскопический объект = микроб): вирусы, бактерии, простейшие, грибы

## Сравнительные размеры макро- и микроорганизма



Eade Creative Services, Inc. / George Eade, Illustrator

## Задачи медицинской микробиологии

- микробиологии
   изучение структуры и биологических свойств микробов
- изучение взаимоотношений микроба с организмом человека (т.е. инфекции), а именно:
  - патогенеза
  - диагностики
  - лечения
  - профилактики

## Микробиологические методы исследования (диагностики)

Микроскопический	Микробиологический	Экспериментальный (биологический)
Патологический материал	Патологический материал    чистая культура микроба	Патологический материал

## Микробиологические методы исследования (диагностики)

Иммунологический (иммунобиологический) метод (методы)

Серологические реакции

Кожноаллергичес кие пробы:

Выявление антигенов микроорганизмов:

в пат. м-ле (экспрессдиагностика) в чистой культуре (серол. идентификация) Выявление антител в сыворотке больного (серодиагностика) выявление специфической гиперчувствительности (аллергии) Методы оценки иммунного статуса

## **История развития** микробиологии

• описательный период - конец XVII – сер. XIX в.

• физиологический (пастеровский) период - сер. XIX – начало. XX в.

- иммунологический период начало середина XX в.
- современный период с середины ХХ в.

# История развития микробиологии: описательный период

- конец XVII сер. XIX в.
- открытие мира микроорганизмов, описание их внешнего вида
- Антоний Левенгук (1632-1723) открытие микроорганизмов



# История развития микробиологии: физиологический (пастеровский) период

- сер. XIX начало. XX в.
- изучение жизнедеятельности микробной клетки, открытие болезнетворных бактерий, начало научной микробиологии
- Луи Пастер
- Роберт Кох

## Луи Пастер (1822-1895) –

французский химик



### Заслуги Л. Пастера

- открытие патогенных микроорганизмов
  - стафилококк
  - пневмококк
  - клостридии
- приготовление живых (ослабленных) вакцин
  - куриная холера
  - сибирская язва
  - Бешенство
- другие открытия
  - микробная природа брожения
  - микробная природа болезней шелковичных червей, вина и пива
  - невозможность самозарождения микроорганизмов
  - стерилизация сухим жаром и пастеризация

## Роберт Кох (1843-1910) – немецкий микробиолог



### Заслуги Р.Коха

- открытие патогенных микроорганизмов
  - сибиреязвенная палочка
  - холерный вибрион (запятая Коха)
  - туберкулезная палочка (палочка Коха)
- разработка основных правил идентификации патогенных микробов как этиологических агентов = триада Генле-Коха:
  - 1. выделить данный микроб от больного
  - 2. получить чистую культуру
  - 3. заразить ею лабораторное животное с последующим развитием у него схожей клинической картины

#### • другие открытия

- плотные питательные среды
- анилиновые красители
- иммерсионный объектив
- микрофотография
- стерилизация текучим паром

## История развития микробиологии: иммунологический период

- начало середина XX в.
- открытие иммунитета

Илья Ильич Мечников

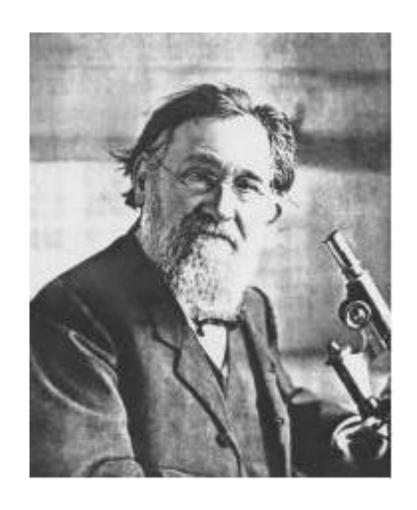
Пауль Эрлих

Флеминг, сэр Александер

Дмитрий Иосифович Ивановский

### Илья Ильич Мечников (1845-1916)

- основоположник клеточной теории иммунитета,
- автор учения о фагоцитозе,
- занимался вопросами профилактики холеры и других инфекционных заболеваний



### Пауль Эрлих (1854-1915)

немецкий химик, бактериолог, иммунолог

- Предложил гуморальную теорию иммунитета,
- Основоположник химиотерапии инфекционных болезней,
- Разработал препарат 606 (сальварсан) для лечения сифилиса



### Флеминг, сэр Александер

(1881-1955) - американский бактериолог

- обнаружил лизоцим и определил его антибактериальные свойства,
- – открыл пенициллин



## Ивановский Дмитрий Иосифович (1864-1920)

- открытие вирусов,
- сформировал теорию вирусных инфекций



### История развития микробиологии: современный период

- с середины XX в.
- молекулярные методы исследования
- Анре Львофф
- Родни Портер и Джеральд Эдельман
- Бёрнет, сэр Фрэнк Макфарлейн
- Роберт Галло и Люк Монтанье
- Стэнли Прузинер

## **Анре Львофф** (1902-1994) - французский генетик,

- лауреат Нобелевской премии за открытие генетического контроля синтеза ферментов и вирусных частиц,
- - открыл провирус.



### Родни <u>Портер,</u> Джеральд <u>Эдельман</u>

- - открытие химической структуры антител,
- - лауреаты Нобелевской премии 1972 г.

Р. Портер -(1917–1985) английский иммунолог

Д. Эдельман – (1929) американский биолог





## <u>Бернет</u>, сэр Фрэнк Макфарлейн (1899-1985)

- австралийский иммунолог и вирусолог,
- автор клональноселекционной теории иммунитета,
- - предложил бактериофаг для типирования шигелл,
- - впервые изучил возбудителя Ку-лихорадки



### Роберт <u>Галло</u> (1937)

- американский врач,
- в 1982 г. предположил, что причиной СПИДа является ретровирус HTLV-3, который позднее был назван ВИЧ



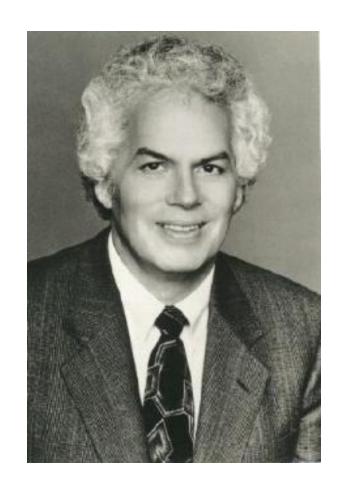
### Люк <u>Монтанье</u> (1932)

- - французский вирусолог
- - В1983 Г. с сотрудниками лаборатории выделили ретровирус (LAV) из лимфатического узла больного лимфаденопатией, который позднее был назван ВИЧ



### Стэнли Прузинер (1942)

- американский вирусолог,
- - открытие прионов как нового биологического принципа инфицирования,
- впервые выделил возбудителя болезни Крейцфельдта-Якоба



### Классификация микроорганизмов

#### Классификация патогенных микроорганизмов

(определитель м/о Берджи – новое издание – 2001г)

### Надцарство:

**Prokaryota** 

#### Домен:

- 1.Bacteria = эубактерии 2. архебактерии
  - Бактерии с тонкой клеточной стенкой (грамотрицательные),
    - Бактерии с толстой клеточной стенкой (грамположительнные),
  - Бактерии без клеточной стенки

(класс Mollicutes – микоплазмы)

#### Классификация патогенных микроорганизмов

(определитель м/о Берджи – новое издание – 2001г)

### Домен:

### 1.Bacteria = эубактерии

#### Тип (23) - медицинское значение имеют:

- Proteobacteria,

- Firmicutes,

- Actinobacteria,

- Chlamidiae,

- Spirochaetes,

- Bacteroidetes,

- Fusobacteria

Класс → Род → Вид

#### Классификация патогенных микроорганизмов

(определитель м/о Берджи – новое издание – 2001г)

### Надцарство:

**Eucaryota** 

Домен:

#### **Eucaria**

#### Царство:

- 1. Mycota
- 2. Animalia (подцарство Protozoa)

## Основные классификационные понятия

**Вид** - основной таксон в классификации прокариот = Эволюционно сложившаяся совокупность особей, имеющая единый генотип, проявляющийся сходными фенотипическими признаками.

#### Подвидовые категории:

- **-Варианты** (более мелкая таксономическая единица = подразделение внутри вида):
  - \* морфовар,
  - \* биовар,
  - \*ферментовар,
  - \* фаговар,
  - \*серовар,
- -Штамм = совокупность микроорганизмов, выделенных из разных источников в одно и то же время или из одного источника в разное время
- -Клон (потомство одной клетки)

## Принципы формирования бинарного названия бактерий

Род	Вид	
Фамилия автора	Морфология колоний	
Морфология бактерий	Место обитания в организме	
	Географическое место	
	выявления	
	Клинические признаки	

## Примеры формирования бинарного названия

Название бактерий	Условное обозначение		
	принадлежности к:		
	роду	виду	
Стафилококк	Staphylococcus (грозді	ь aureus (золотистый	
золотистый	винограда, шар)	цвет колоний)	
Staphylococcus aureus			
Кишечная палочка	Escherichia	coli (кишка)	
Escherichia coli	(Эшерих – ученый	,	
	выделивший эту	7	
	бактерию)		
Брюшнотифозная	Salmonella	typhy («туман» -	
палочка	(Сальмон – ученый	, бред)	
Salmonella typhy	выделивший эту	7	
	бактерию)		
Clostridium tetani	Clostridium	tetani (tetanus =	
	(веретено)	судороги)	

### Методы микроскопии

- Световая микроскопия:
  - Обычная световая
  - Иммерсионная
  - Темнопольная
  - Фазово-контрастная
- Люминесцентная микроскопия
- Электронная микроскопия

### Методы микроскопии: иммерсионная микроскопия

• Используемый микроскоп

Биологический микроскоп + иммерсионный объектив

• Эффект (принцип метода)

Иммерсионное масло (между предметным стеклом и объективом) = стекло (по коэффициенту преломления) ⇒ устраняет потери попадающих в объектив лучей света

• Применение в микробиологии

Наиболее часто используется в бактериологии для микроскопического метода исследования

### Методы микроскопии: темнопольная микроскопия

• Используемый микроскоп

Биологический микроскоп + темнопольный конденсор

• Эффект (принцип метода)

В объектив попадают лишь преломленные на объекте лучи (светлый объект на темном фоне)

• Применение в микробиологии

Используется для микроскопии очень тонких объектов – например, спирохет

## Методы микроскопии: фазово-контрастная микроскопия

#### • Используемый микроскоп

Биологический микроскоп + фазово-контрастная приставка

#### • Эффект (принцип метода)

Изменение фазы световой волны (меняется при прохождении прозрачных объектов) – не воспринимается глазом → изменение её амплитуды – воспринимается глазом

#### • Применение в микробиологии

Используется для изучения прозрачных, неокрашенных, объектов – например, микоплазм

# Методы микроскопии: люминесцентная (флуоресцентная) микроскопия

• Используемый микроскоп

Люминесцентный (флуоресцентный) микроскоп

• Эффект (принцип метода)

Регистрирует фотолюминесценцию объекта

- Применение в микробиологии
  - Микроскопия мазков, окрашенных флюоресцирующими красками (аурамин, родамин, корефосфин и др.)
  - Оценка реакции иммунофлюоресценции (РИФ)

## Методы микроскопии: электронная микроскопия

- Используемый микроскоп Электронный
- Эффект (принцип метода)

Вместо светового пучка используется пучок электронов

- Применение в микробиологии
  - Изучение вирусов
  - Изучение ультраструктуры микробной клетки

#### Техника приготовления мазков

- 1. На стекло петлей нанести каплю воды, внести в нее культуру и растереть, чтобы получить тонкий и равномерный мазок. Диаметр мазка должен быть равен 1 см.
- 2. Высушить на воздухе.
- 3. Зафиксировать: предметное стекло мазком вверх 3 раза провести через пламя горелки.
- 4. Окрасить.

#### Простые методы окраски –

#### используется один краситель

- окраска
   метиленовым синим
- окраска водным фуксином
- Окраска по Бурри

- Выявление наличия микробов в патологическом материале
- Изучение:
  - формы бактерий
  - их расположения в мазке

#### Сложные методы окраски:

- Окраска по Граму (основной метод окраски в бактериологии)
  - определение типа строения клеточной стенки
- Окраска по Цилю-Нильсену
  - выявление кислотоустойчивых бактерий (микобактерий)
- Окраска по Ожешко
  - выявление спор
- Окраска по Нейссеру
  - выявление включений волютина и идентификация по их наличию коринебактерий
- Окраска по Бурри-Гинсу
  - выявление капсул

#### Форма бактерий

- 1. Имеющие определенную форму (Firmicutes и Gracilicutes)
  - -круглые (кокки)
    - идеальный шар стафилококки
    - овальные стрептококки
    - ланцетовидные пневмококк



• бобовидные – нейссерии

#### Форма бактерий

#### -палочки

- прямые большинство
- изогнутые
  - один изгиб вибрионы
  - 2-3 изгиба кампилобактер, хеликобактер
- ветвящиеся и способные к ветвлению актиномицеты, микобактерии, коринебактерии

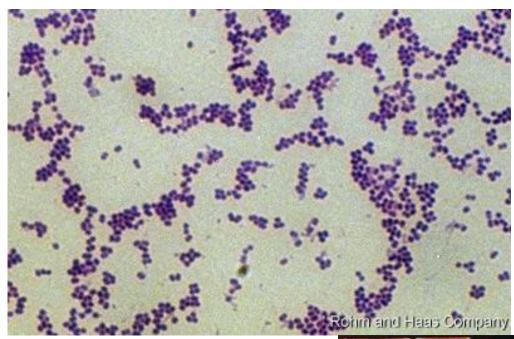
#### - извитые

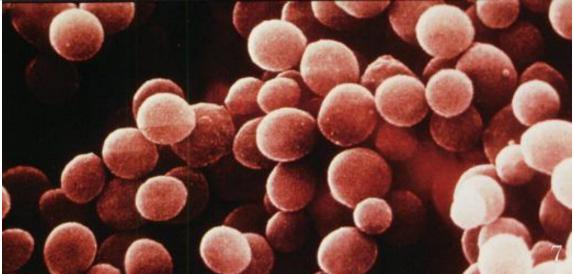
• спирохеты – трепонемы, лептоспиры, боррелии

#### Форма бактерий

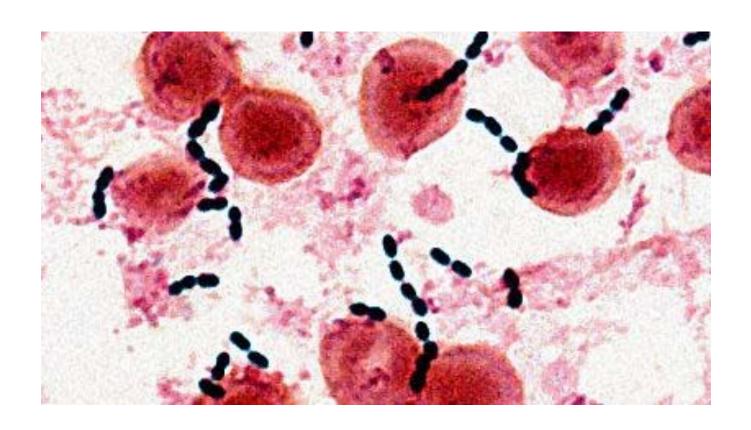
- 2. Не имеющие определенной формы (Tenericutes)
  - микоплазмы

### Стафилококки

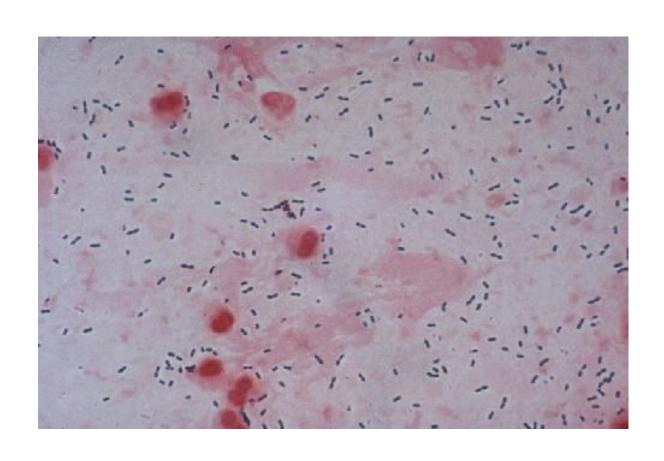




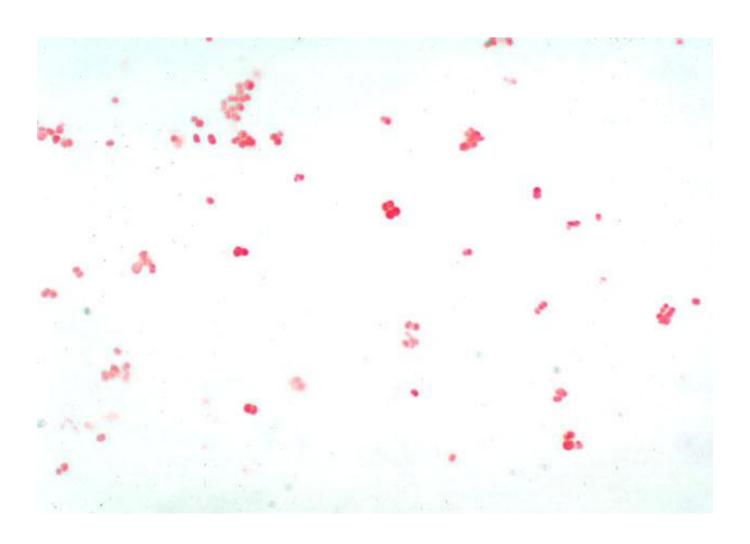
### Стрептококки, окрашенные по Граму



#### Пневмококки, окраска по Граму

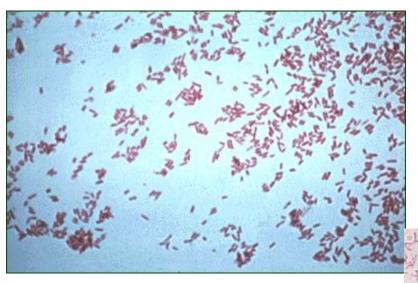


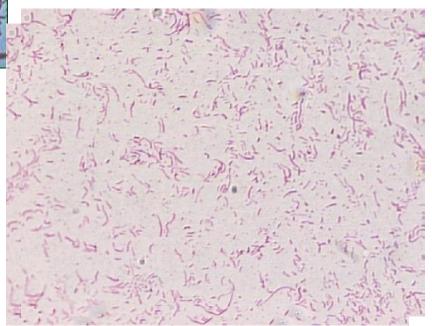
## Сарцина, окрашенная фуксином



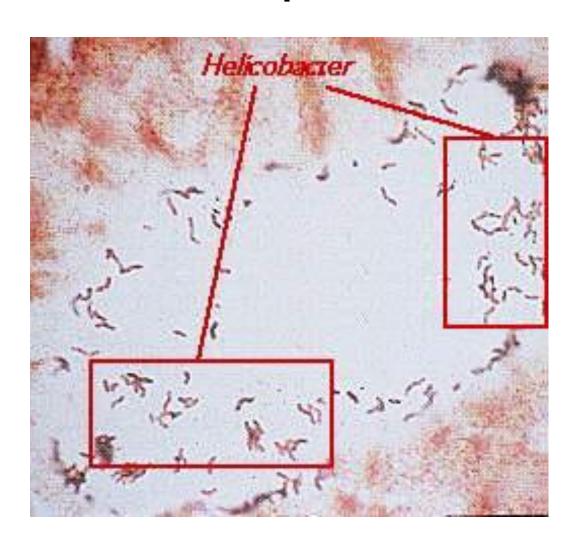
#### Кишечная палочка,

окрашенная по Граму



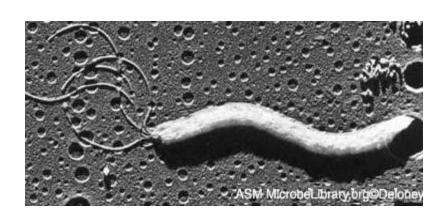


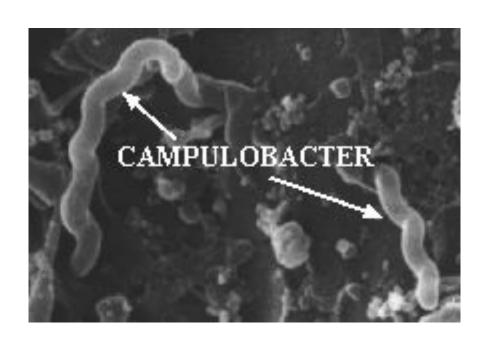
## Хеликобактер, окраска по Граму



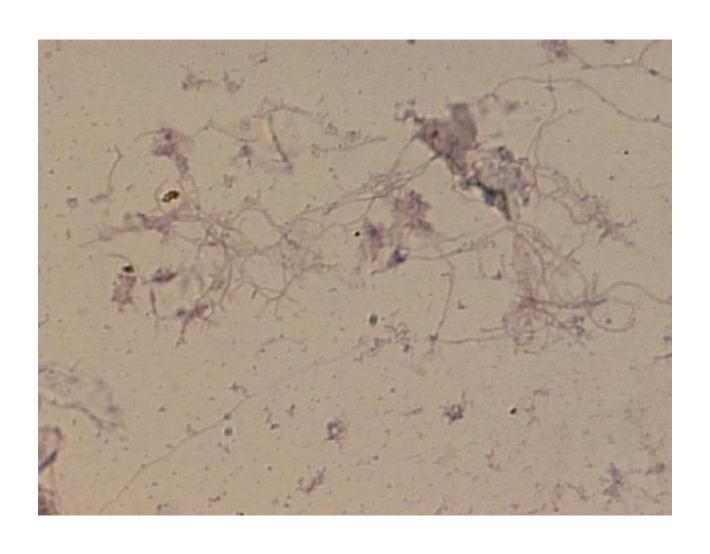
#### Извитые бактерии

(сканирующая микроскопия)

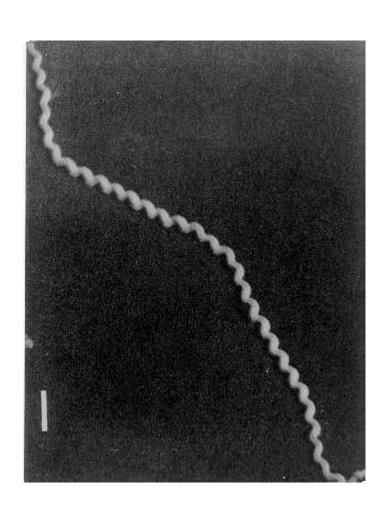




## Актиномицеты



## Трепонема (сканирующая микроскопия)



### Размер бактерий

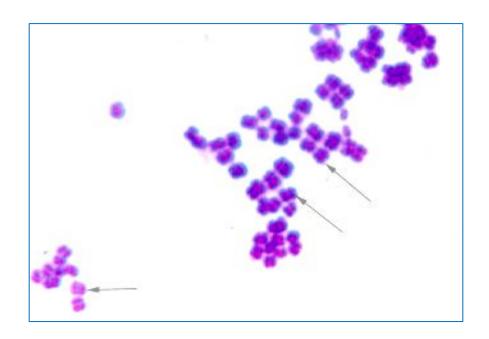
- кокки ~1 мкм
- палочки
  - очень мелкие коккобактерии (бруцеллы, франциселлы, бордетеллы, гемофилы)
  - мелкие и средние большинство
  - крупные ветвящиеся и спорообразующие
- спирохеты тонкие и длинные
- микоплазмы самые разные

#### Расположение бактерий в мазке

#### КОККИ

- беспорядочно, поодиночке микрококки
- попарно (диплококки) пневмококки, нейссерии, энтерококки
- пакеты, кратные 4 сарцина
- цепочки стрептококки
- подобно гроздьям винограда стафилококки

## Сарцина, окраска по Граму



#### Расположение бактерий в мазке

#### • палочки

- беспорядочно большинство
- попарно клебсиеллы, коринебактерии
- цепочкой стрептобациллы

### Стрептобациллы, окраска по Граму

