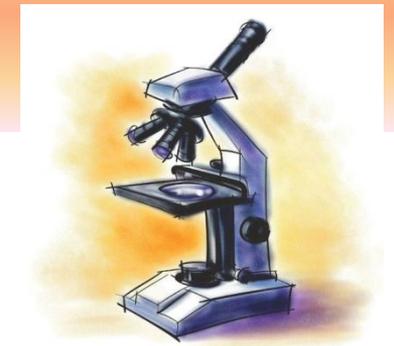




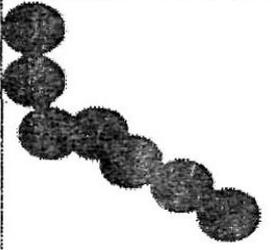
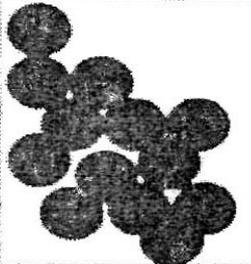
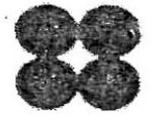
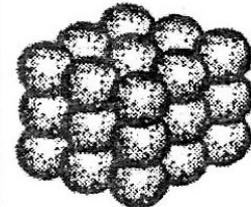
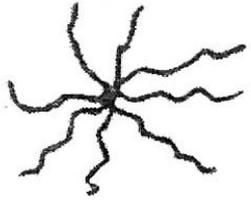
Основы микробиологии и иммунологии



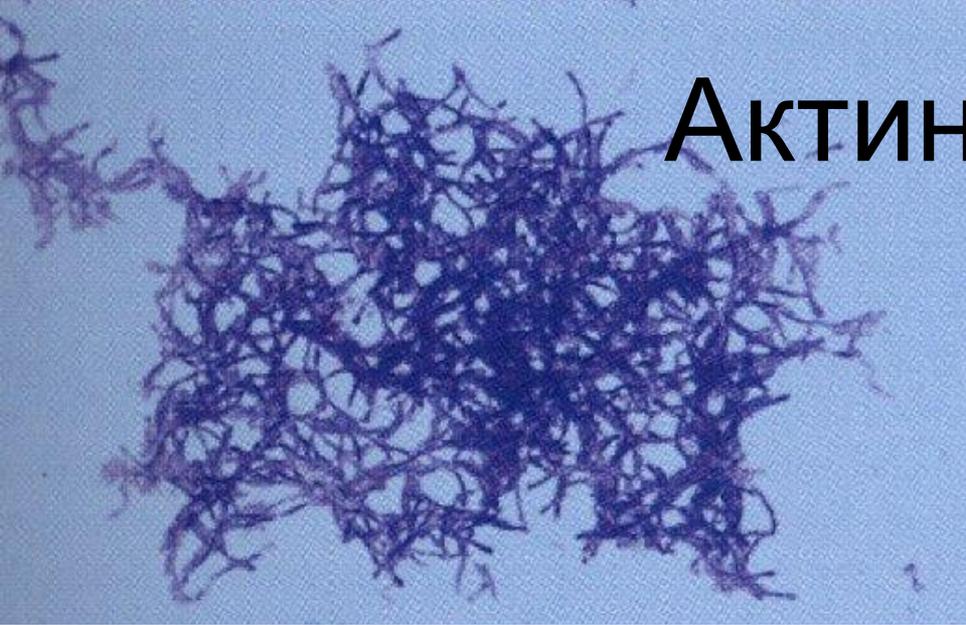
- **Морфология и классификация микроорганизмов (часть 2)**
- **Строение бактериальной клетки**

МОРФОЛОГИЯ БАКТЕРИИ

ФОРМЫ БАКТЕРИЙ

ШАРОВИДНЫЕ	стрептококки	стафилококки	диплококки	тетракокки	сарцины	микрочкокки		
								
ПАЛОЧКОВИДНЫЕ	стрептобактерии	коринебактерии	фузобактерии	диплобактерии	монобактерии	кloстридии (бациллы)	бациллы	
							стрепто	моно
ИЗВИТЫЕ	вибрионы	спирохеты			спирилы	актиномицеты		
		лептоспиры	боррелии	трепонемы				

АКТИНОМИЦЕТЫ



Ветвящиеся нитевидные или палочковидные грамположительные бактерии. Способны образовывать споры.

Родственными им считают микобактерии, нокардии, коринебактерии – палочковидные, неправильной формы бактерии.

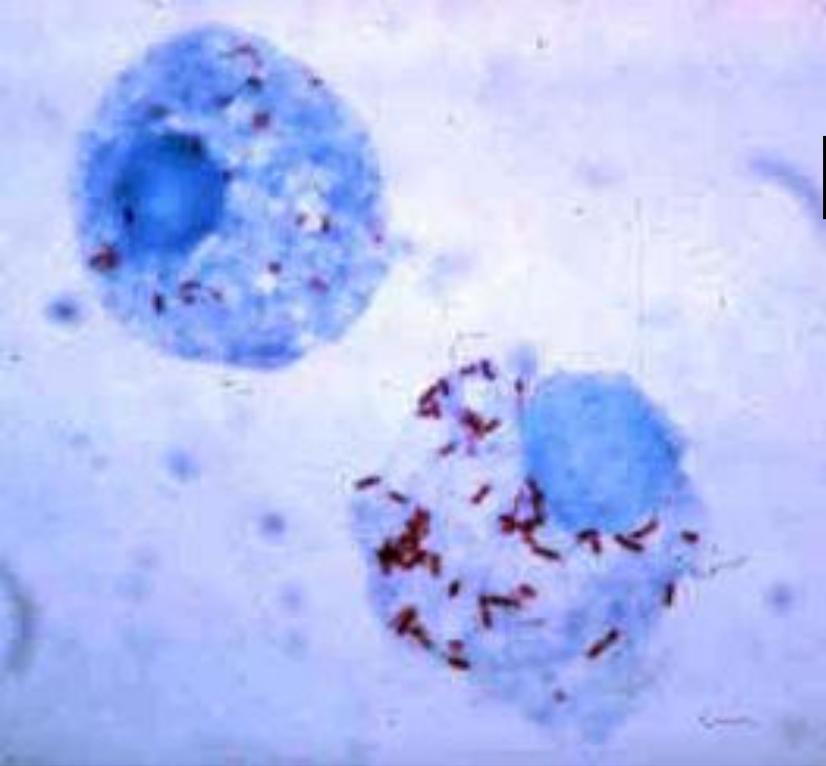
Характерна кислотоустойчивость – окрашиваются по Цилю-Нильсену в красный цвет.

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.



Риккетсии

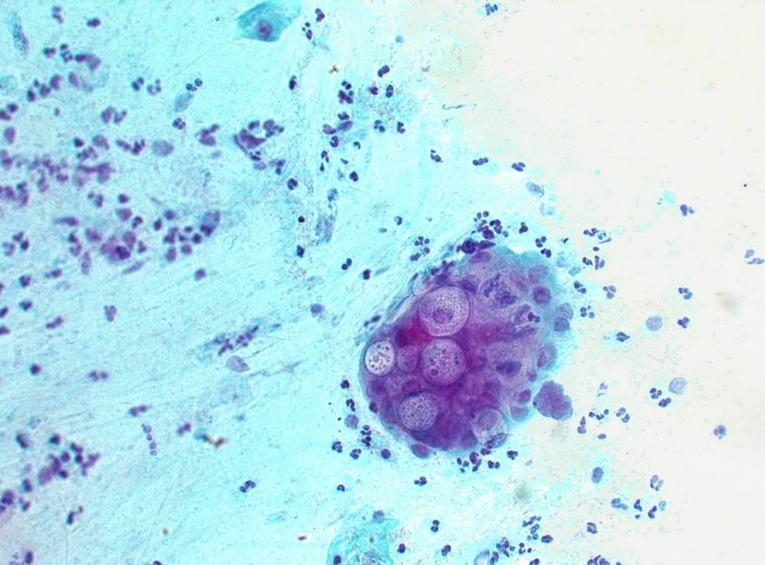
Мелкие грамотрицательные палочковидные бактерии, вызывающие у человека эпидемический сыпной тиф и риккетсиозы.

Спор, жгутиков, капсул не имеют.

Риккетсии полиморфны, т. е. имеют различные морфологические формы: кокковидные, палочковидные, нитевидные.

Размножаются риккетсии простым делением.

Как и вирусы, риккетсии являются облигатными (обязательными) внутриклеточными паразитами, рост и размножение которых происходят в клетках подходящего хозяина.

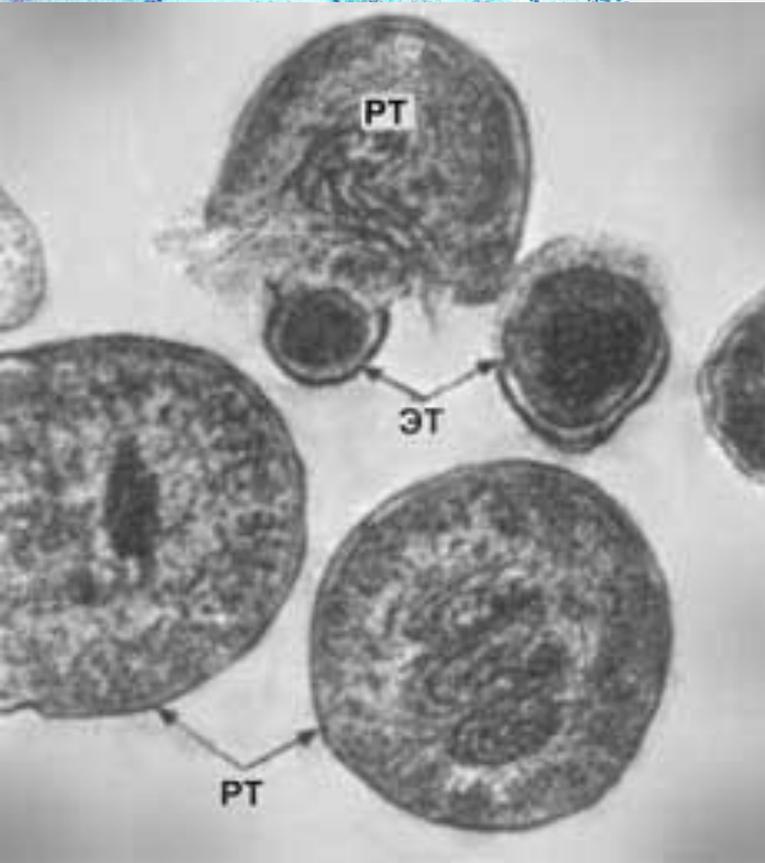


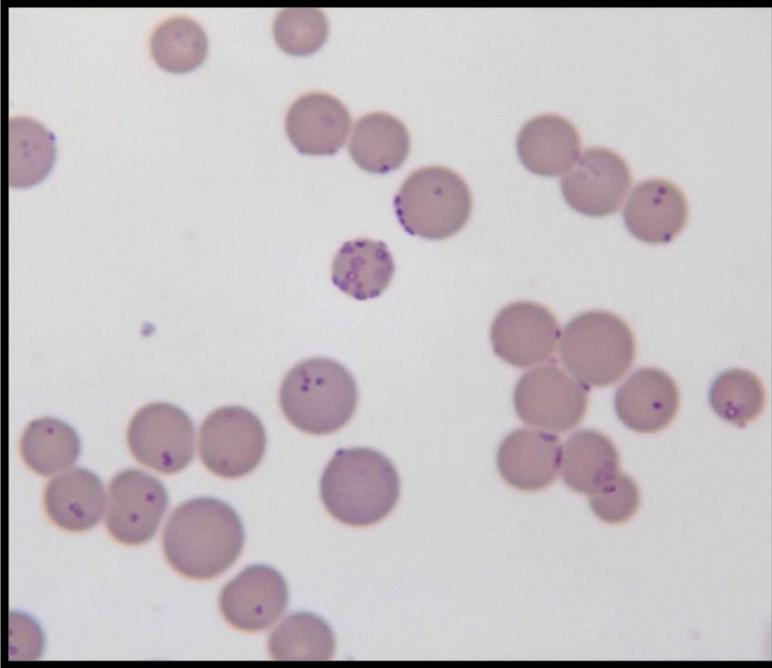
Хламидии

Это грамотрицательные кокки, являющиеся облигатными внутриклеточными паразитами.

Вне клеток – неактивные т. наз. элементарные тельца, при попадании в клетку превращаются в делящиеся ретикулярные тельца, образуя скопления в вакуолях клеток организма-хозяина.

У человека поражают уrogenитальный тракт, а также глаза - вызывают конъюнктивит и пр.





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)

Основные методы выявления микроорганизмов

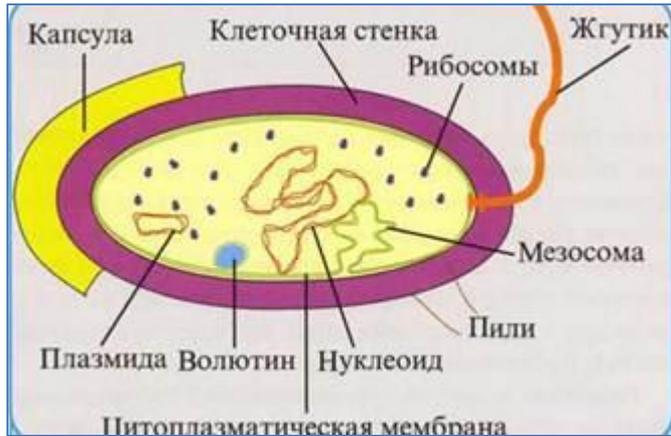
- **Микроскопические методы** включают приготовление мазков и препаратов для микроскопирования. В большинстве случаев результаты микроскопических исследований носят ориентировочный характер, так как многие микроорганизмы лишены морфологических и тинкториальных особенностей.
- **Микробиологические методы** позволяют точно установить факт наличия возбудителя в исследуемом материале: включает культивирование, выделение чистой культуры и идентификацию микроорганизмов с учетом морфологических, тинкториальных, культуральных, биохимических, токсигенных и антигенных свойств.
- **Биологические методы** направлены на определение наличия токсинов возбудителя в исследуемом материале и на обнаружение возбудителя, включают заражение лабораторных животных с последующим исследованием их.
- **Серологические методы** выявления специфических антител и антигенов возбудителя - важный инструмент в диагностике инфекционных заболеваний.
- **Аллергологические методы**. Антигены многих возбудителей обладают сенсibiliзирующим действием, что используют для диагностики инфекционных заболеваний (кожно-аллергические пробы).
- **Молекулярно-биологический** (ПЦР, ДНК-ДНК-гибридизация и др).

Чистая культура представляет собой микробные особи одного и того же вида, выращенные из изолированной колонии, выращенной на твердой питательной среде.

Штамм — культура, выделенная из определенного источника, или из одного и того же источника в разное время. Обычно штаммы обозначают либо протокольными номерами, либо по источнику выделения (человек, животное, внешняя среда), либо по местности (городу), где он был выделен. Штаммы одного и того же вида могут быть идентичными или различаться по некоторым признакам, не выходящим за пределы вида.

Клоном называют культуру микроорганизма, выделенную из одной клетки (одноклеточная культура).

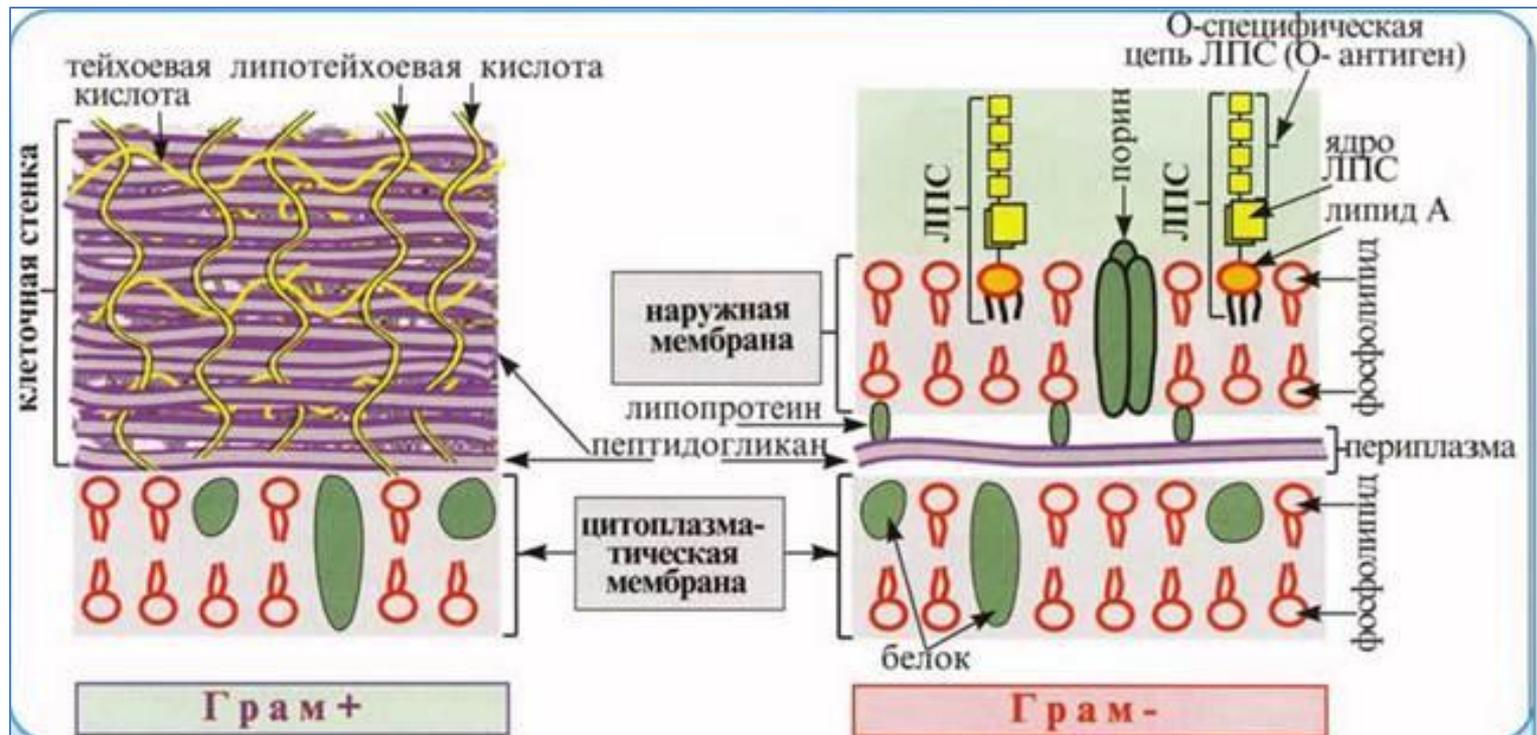
УЛЬТРАСТРУКТУРА БАКТЕРИАЛЬНОЙ КЛЕТКИ



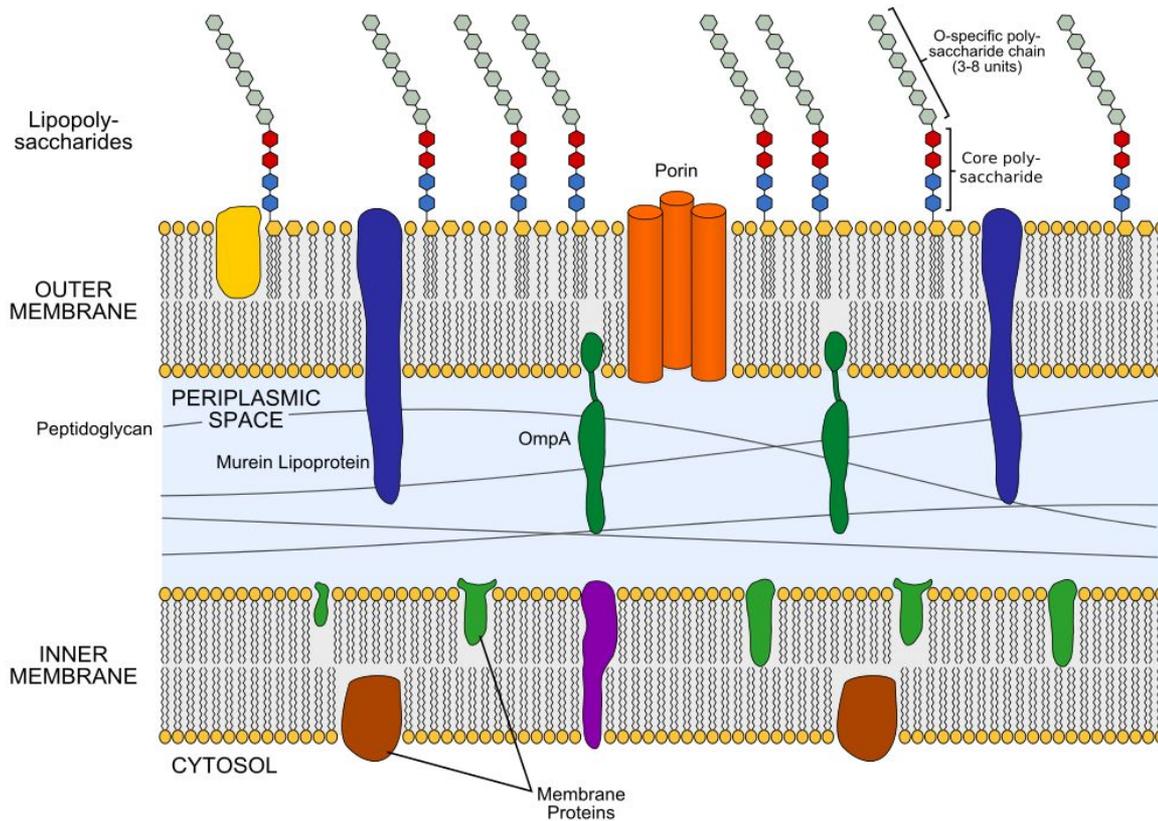
1. **НУКЛЕОИД** — ДНК, РНК, белки (отсутствуют мембрана, гистоны, не делится митозом)
2. **ЦИТОПЛАЗМА:**
 - а) рибосомы — синтез белка;
 - б) плазмиды — генетические функции (способность к конъюгации, резистентность к лекарствам, синтез токсинов и т.д.);
 - в) включения — волютин, гликоген, крахмал, сера — запас питательных веществ;
 - г) рапидосомы — для передвижения.
3. **ЦПМ** — транспорт извне питательных веществ.
4. **МЕЗОСОМЫ** — производные ЦПМ (ламинарные, везикулярные, трубчатые) — участие в делении.
5. **КЛЕТОЧНАЯ СТЕНКА** придает бактериям постоянную форму. Основа — пептидогликан: грам (–) — однослойный, грам (+) — многослойный.
6. **ЖГУТИКИ** — аппарат передвижения: монотрихи, амфитрихи, перитрихи (аэротаксис, фототаксис).
7. **ПИЛИ:**
 - а) первого типа — общие пили (100—200) адгезивные;
 - б) второго типа — конъюгативные (половые) пили (1—4).

8. **КАПСУЛА** (макрокапсула, слизистый чехол, микрокапсула):
 - а) химическое строение — полисахарид;
 - б) не является необходимой частью клетки;
 - в) образуется главным образом в организме (исключение: возбудитель сибирской язвы);
 - г) функция приспособления (защита для микроорганизма, агрессия для макроорганизма);
 - д) антигенные свойства — определяет типоспецифичность;
 - с) обнаруживается при окраске Гинс-Бури.
9. **СПОРА:**
 - а) форма сохранения вида в неблагоприятных условиях;
 - б) не является способом размножения;
 - в) место расположения (центральная, субтерминальная, терминальная).

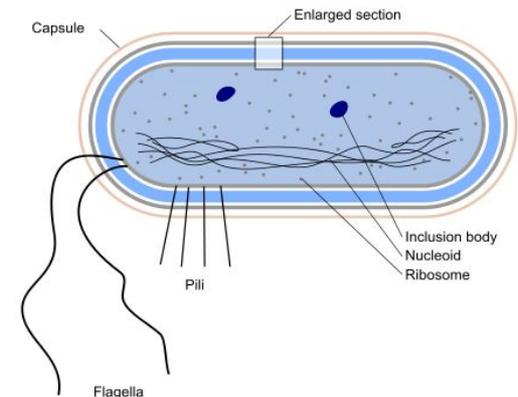
Строение клеточной стенки



Основным структурным компонентом стенок, основой их жесткой структуры является муреин. Это органическое соединение сложного строения, в состав которого входят сахара, несущие азот, — аминокислоты и 4—5 аминокислот. Причем аминокислоты клеточных стенок имеют необычную форму (**D-стереоизомеры**), которая в природе редко встречается.



Gram Negative Bacterial Cell Wall



В состав клеточной стенки грамотрицательных бактерий входит наружная мембрана, связанная посредством липопротейна с подлежащим слоем пептидогликана.

На ультратонких срезах бактерий наружная мембрана имеет вид волнообразной трехслойной структуры, сходной с внутренней мембраной, которую называют цитоплазматической.

Основным компонентом этих мембран является бимолекулярный (двойной) слой липидов.

Внутренний слой наружной мембраны представлен фосфолипидами, а в наружном слое расположен липополисахарид.

Функции клеточной стенки:

- Обуславливает форму клетки.
- Защищает клетку от механических повреждений извне и выдерживает значительное внутреннее давление.
- Обладает свойством полупроницаемости, поэтому через нее избирательно проникают из среды питательные вещества.
- Несет на своей поверхности рецепторы для бактериофагов и различных химических веществ.

фенотипические модификации бактерий

- L-формы - это бактерии, полностью или частично лишенные клеточной стенки (протопласт и, возможно, остаток клеточной стенки), поэтому имеют своеобразную морфологию в виде крупных и мелких сфер. Способны к размножению.
- L-формы возникают под воздействием веществ, блокирующих синтез клеточной стенки: некоторых антибиотиков, лизоцима, ультрафиолетовых и рентгеновских лучей, и др. Культивировать L-формы можно только на специальных плотных средах.
- Переход в L-форму - как способ переживания бактериями неблагоприятных условий.
- Сходство с микоплазмами.
- Утрата клеточной стенки делает L-формы нечувствительными к различным химиопрепаратам и антителам: ПЕРСИСТЕНЦИЯ (длительное выживание) в организме хозяина. С возможностью перехода в вирулентную форму (патогенные микроорганизмы).

ЦПМ

- Цитоплазматическая мембрана в химическом отношении — белково-липидный комплекс, состоящий из 50—75 % белков и 15—50 % липидов. Основная часть мембранных липидов (70—90 %) представлена фосфолипидами. Она построена из двух мономолекулярных белковых слоев, между которыми расположен липидный слой, состоящий из двух рядов правильно ориентированных молекул липидов.

7 функций цитоплазматической мембраны:

- Является основным осмотическим и онкотическим барьером.

Участвует:

- в энергетическом метаболизме
- в активном транспорте питательных веществ в клетку
- в процессах дыхания
- в процессе деления
- в синтезе компонентов клеточной стенки (пептидогликана)
- в выделении из клетки токсинов и ферментов

Капсула

Капсула — слизистый слой, расположенный над клеточной стенкой бактерии. Вещество капсулы четко отграничено от окружающей среды. В зависимости от толщины слоя и прочности соединения с бактериальной клеткой различают макрокапсулу, толщиной более 0,2 мкм, хорошо различимую в световом микроскопе, и микрокапсулу, толщиной менее 0,2 мкм, обнаруживаемую лишь при помощи электронного микроскопа или выявляемую химическими и иммунологическими методами. Вещество капсул состоит из высокогидрофильных мицелл разного химического состава.

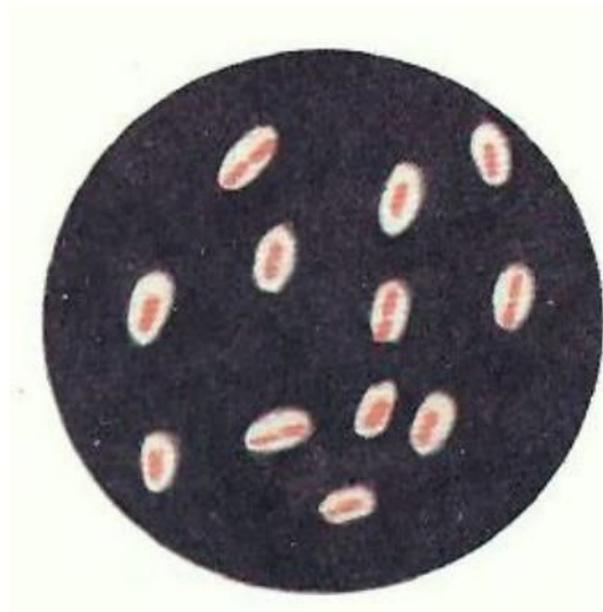
Капсула — полифункциональный органоид, выполняющий важную биологическую роль. Она является местом локализации капсульных антигенов, определяющих вирулентность, антигенную специфичность и иммуногенность бактерий. Утрата капсулы у патогенных бактерий резко снижает их вирулентность*, например у бескапсульных штаммов бациллы сибирской язвы.

Капсулы обеспечивают выживание бактерий, защищая их от механических повреждений, высыхания, заражения фагами, токсических веществ, а у патогенных форм — от действия защитных сил макроорганизма: инкапсулированные клетки плохо фагоцитируются. У некоторых видов бактерий, в том числе и патогенных, способствует прикреплению клеток к субстрату.

* - ВИРУЛЕНТНОСТЬ — это степень патогенности, заразность.

Окраска мазка микроорганизмов по Бурри-Гинсу (негативное контрастирование тушью) – возбудитель сибирской язвы. Для окрашивания капсул применяют специальные методы — Романовского — Гимзы, Михина и др. Микрокапсулу и слизистый слой определяют серологическими реакциями, антигенные компоненты капсулы идентифицируют при помощи иммунофлюоресцентного метода.

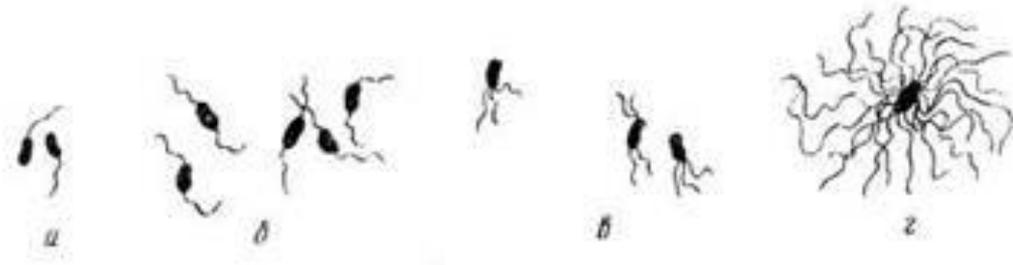
Окраска капсулы по Бурри-Гинсу



S-СЛОИ

От англ. Surface – поверхность. Могут иметься на поверхности прокариот, часты у архей. Напоминают паркетные дощечки: белковые (или гликопротеиновые) образования правильной формы, плотно прикрывающие клетку снаружи. У грамположительных – связаны с пептидогликановым слоем, у грамотрицательных – прилегают к внешней мембране КС

Жгутики



а — монотрихи; б — амфитрихи; в — лофотрихи; г — перитрихи

Состоят из белка – флагеллина, являющегося антигеном (H-антиген). Жгутики не являются жизненно важными структурами бактериальной клетки: существуют фазовые вариации бактерий, когда в одной фазе развития клетки они имеются, у другой — отсутствуют. Так, у возбудителя столбняка в старых культурах преобладают клетки без жгутиков.

Бактерии передвигаются беспорядочно, однако они способны к направленным формам движения — таксисам, которые определяются внешними стимулами. Реагируя на различные факторы окружающей среды, бактерии за короткое время локализуются в оптимальной зоне обитания. Таксис может быть положительным и отрицательным.

Пили (фимбрии, ворсинки)

Прямые, тонкие, полые белковые цилиндры толщиной до 25 нм и длиной до 12 мкм, отходящие от поверхности бактериальной клетки. Образованы специфическим белком — пилином, берут начало от цитоплазматической мембраны, встречаются у подвижных и неподвижных форм бактерий и видимы только в электронном микроскопе. Половые пили возникают на поверхности бактерий в процессе конъюгации и выполняют функцию органелл, через которые происходит передача генетического материала (ДНК) от донора к реципиенту.

Пили общего типа (фимбрии) располагаются перитрихально (кишечная палочка) или на полюсах (псевдомонады). Они выполняют адгезивную функцию, участвуют в транспорте метаболитов.

Цитоплазма

- Цитоплазма прокариот — содержимое бактериальной клетки, ограниченное цитоплазматической мембраной. Значительно беднее по составу структур, по сравнению с эукариотической клеткой. Компартиментализация цитоплазмы у прокариотической клетки отсутствует

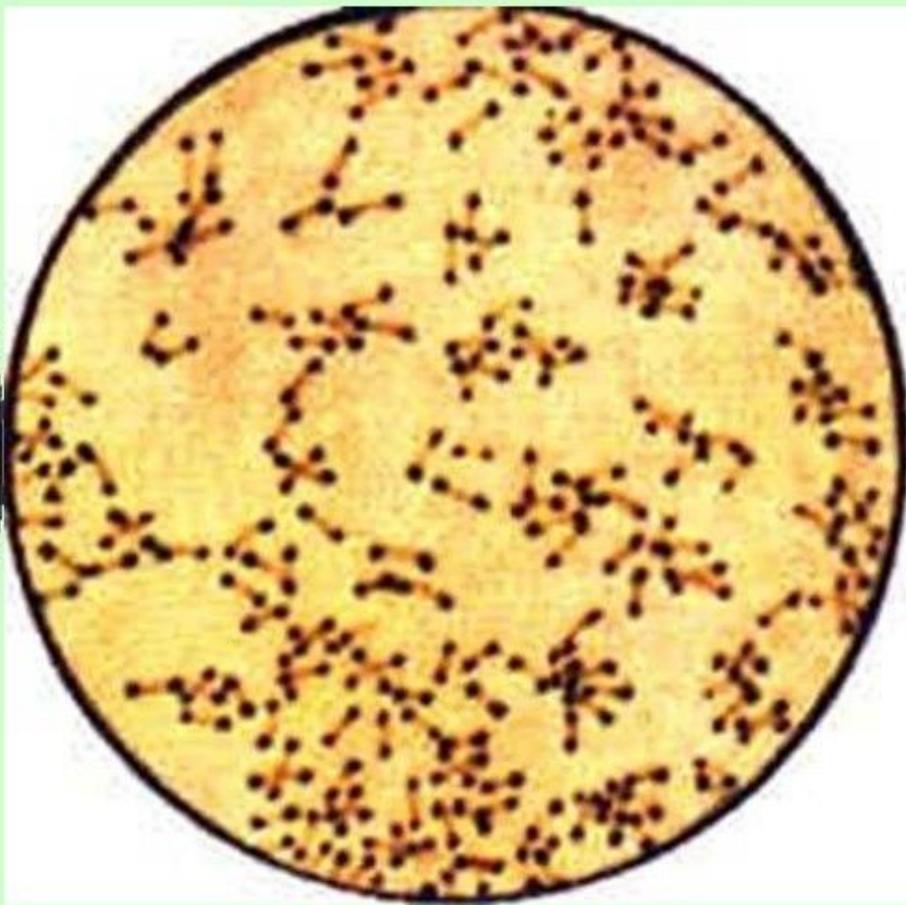


Включения

Это чаще всего запасные питательные вещества и продукты клеточного метаболизма. К запасным питательным веществам относятся: полисахариды, липиды, полифосфаты, отложения серы и др. В клетках некоторых коринебактерий, спирилл и других содержатся гранулы волютина, образованные полифосфатами (играют роль фосфатных депо). Толуидиновый синий и метиленовый синий окрашивают их в фиолетово-красный цвет*.

* Метахромазия — свойство клеток и тканей окрашиваться в цветовой тон, отличающийся от цвета самого красителя

Палочки с зернами волютина (окраска по Нейссеру)



Споры

Спорообразование - способ сохранения определенных видов бактерий в неблагоприятных условиях среды. *Эндоспоры* образуются в цитоплазме, представляют собой клетки с низкой метаболической активностью и высокой устойчивостью к высушиванию, действию химических факторов, температуры и др.

При световой микроскопии часто используют метод выявления спор *по Ожешко*. Высокая резистентность связана с большим содержанием *кальциевой соли дипиколиновой кислоты* в оболочке спор. Расположение и размеры спор у различных микроорганизмов отличается, что имеет дифференциально-диагностическое (таксономическое) значение.



Основные фазы “жизненного цикла” спор- *споруляция* (включает подготовительную стадию, стадию предспоры, образования оболочки, созревания и покоя) и *прорастание*, заканчивающееся образованием вегетативной формы. Процесс спорообразования генетически обусловлен. Не является размножением, т.е. чаще всего это «1 клетка – 1 спора».

Споруляция начинается обычно при истощении питательных веществ в среде.

Споры бацилл сибирской язвы в скотомогильниках сохраняют жизнеспособность в течение 500 лет, споры актиномицетов – до 7500 лет, споры из кишечника пчелы (в янтаре) – *Bacillus cereus* – 25 млн.лет.

Типы спорообразования

Эндоспоры хорошо видны в клетках при микроскопии. Они практически непроницаемы для большинства красителей – наблюдаются как неокрашенные тельца на фоне прокрашенного содержимого бактериальной клетки.

Залегают споры по-разному: различают бациллярный, кластридиальный и плектридиальный тип спорообразования.

Некультивируемые формы бактерий.

У многих видов грамотрицательных бактерий, не образующих спор, существует особое приспособительное состояние - некультивируемые формы. Они обладают низкой метаболической активностью и активно не размножаются, т.е. не образуют колоний на плотных питательных средах, при посевах не выявляются. Обладают высокой устойчивостью и могут сохранять жизнеспособность в течение нескольких лет. Не выявляются классическими бактериологическими методами, обнаруживаются только при помощи генетических методов (*полимеразной цепной реакции- ПЦР*).

Рибосомы

Рибосомы осуществляют биосинтез белка. Состоят из белка и РНК, соединенных в комплекс водородными и гидрофобными связями.

Бактериальные рибосомы имеют диаметр 15—20 нм, имеют константу седиментации 70S и образованы из двух субъединиц: 30S и 50S. Одна бактериальная клетка может содержать от 5—50 тыс. рибосом.

Нуклеоид и плазмиды

Нуклеоид это «ядро» у прокариот. Он состоит из одной замкнутой в кольцо двухспиральной нити ДНК длиной 1,1 — 1,6 нм., не ограничен от остальной части клетки мембраной — у него отсутствует ядерная оболочка.

В нуклеоид также входят РНК-полимераза, основные белки и отсутствуют гистоны.

Удвоение бактериального генетического материала ДНК (репликация) происходит следующим образом: родительская двойная спираль ДНК раскручивается и на матрице каждой полинуклеотидной цепи собирается новая комплементарная цепочка. Расхождение дочерних ядер обеспечивается ростом цитоплазматической мембраны (митоза нет).

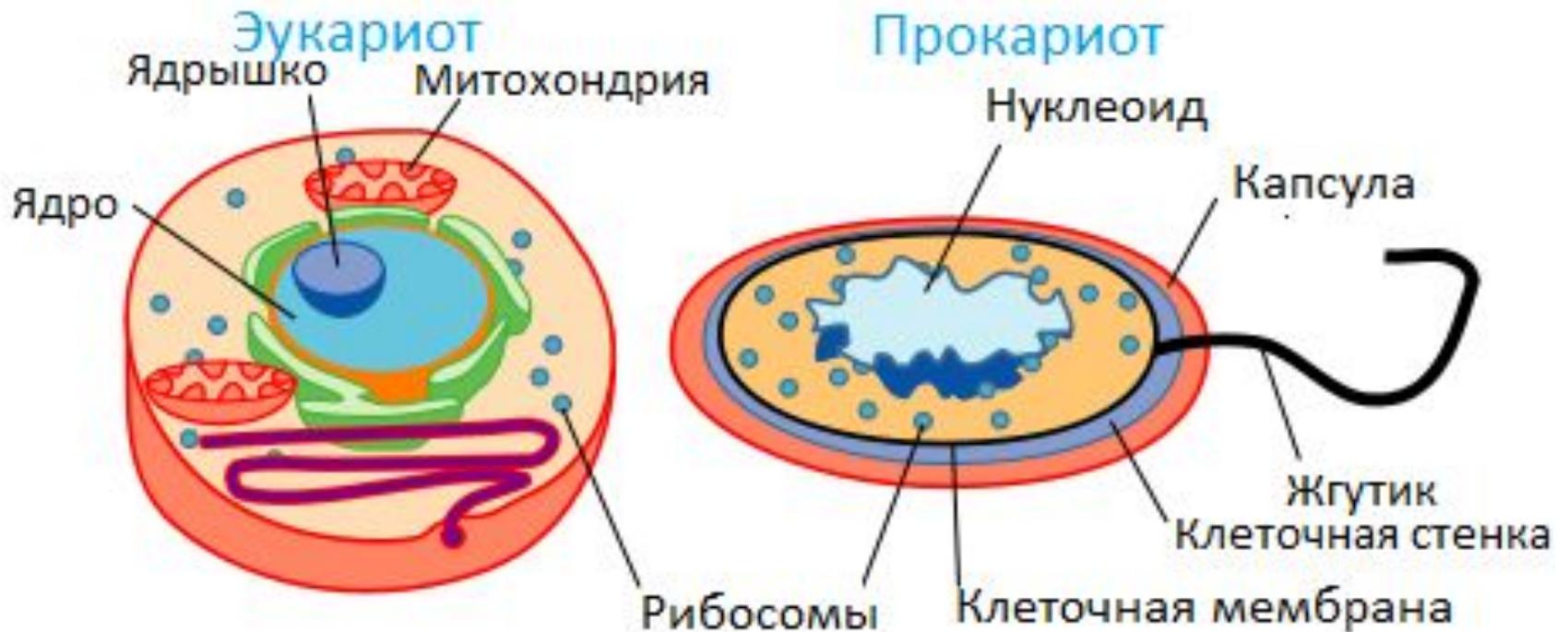
Основной объем генетической информации бактериальной клетки собран в **нуклеоиде**, однако имеются внехромосомные генетические элементы — **плазмиды**, представленные небольшими кольцевыми молекулами ДНК, способными к автономной репликации.

В природе плазмиды обычно содержат гены, повышающие устойчивость бактерии к неблагоприятным внешним факторам (в т. ч. устойчивость к антибиотикам), нередко они могут передаваться от одной бактерии к другой (иногда даже к бактерии другого вида) и, таким образом, служат средством **горизонтального переноса генов**.

Прокариоты отличаются от эукариот по ряду основных признаков

1. Отсутствие истинного дифференцированного ядра (ядерной мембраны)
2. Отсутствие развитой эндоплазматической сети, аппарата Гольджи
3. Отсутствие митохондрий, хлоропластов, лизосом
4. Неспособность к эндоцитозу (захвату частиц пищи)
5. Клеточное деление не связано с циклическими изменениями строения клетки
6. Значительно меньшие размеры (как правило). Большая часть бактерий имеет размеры 0,5-0,8 мкм x 2- 3 мкм

Сравнение клеток прокариот и эукариот:



Сравнительная характеристика клеток эукариот и прокариот

Признак	Прокариоты	Эукариоты
Размеры клеток	Средний диаметр 0,5—10 мкм	Средний диаметр 10—100 мкм
Организация генетического материала		
Форма, количество и расположение молекул ДНК	Обычно имеется одна кольцевая молекула ДНК, размещенная в цитоплазме	Обычно есть несколько линейных молекул ДНК — хромосом, локализованных в ядре
Компактизация ДНК	У бактерий ДНК компактизируется без участия гистонов. (У архей ДНК ассоциирована с белками гистонами)	Имеется хроматин: ДНК компактизируется в комплексе с белками гистонами.
Организация генома	У бактерий экономный геном: отсутствуют интроны и большие некодирующие участки. Гены объединены в опероны. (У архей имеются интронные участки особой структуры.)	Большей частью геном не экономный: имеется экзон-интронная организация генов, большие участки некодирующей ДНК. Гены не объединены в опероны.
Деление		
Тип деления	Простое бинарное деление	Мейоз или митоз
Образование веретена деления	Веретено деления не образуется	Веретено деления образуется
Органеллы		
Тип рибосом	70S рибосомы	80S рибосомы
Наличие мембранных органелл	Окруженные мембранами органеллы отсутствуют, иногда плазмалемма образует выпячивание внутрь клетки	Имеется большое количество одномембранных и двумембранных органелл
Тип жгутика	Жгутик простой, не содержит микротрубочки, не окружен мембраной, диаметр около 20 нм	Жгутики состоят из микротрубочек, расположенных по принципу «9+2», окружены плазматической мембраной, диаметр около 200 нм

- Спасибо за внимание!