



Основы микробиологии и иммунологии





**Морфология и
классификация
микроорганизмов
Вирусы, грибы и простейшие
(часть 3)**

Строение и классификация грибов

Грибы и простейшие имеют четко ограниченное ядро и относятся к эукариотам.

Грибы крупнее бактерий*, в эволюционном плане ближе к растениям:

- Наличие толстой клеточной стенки, содержащей хитин (или целлюлозу),
- Наличие вакуолей с клеточным соком,
- Неспособность к перемещению,
- Видимое движение цитоплазмы

Ядерный материал грибов отделен от цитоплазмы ядерной мембраной (т.е. есть ядро).

**- грибы бывают как многоклеточные, так и одноклеточные*

Возбудители микозов, наиболее часто выявляемые при лабораторном исследовании различных клинических материалов

Спинномозговая жидкость

- *Candida*
- *Cryptococcus*

Гной, отделяемое из абсцессов, язв и пр.

- *Candida*
- *Cryptococcus*
- *Fusarium*
- *Aspergillus*
- *Sporotrix*

Респираторные секреты (мокрота, БАЛ, бронхиальная браш-биопсия, транстрахеальный аспират)

- *Aspergillus*
- *Candida*
- *Cryptococcus*
- *Mucor*
- *Scedosporium*
- *Rhizopus*
- *Sporotrix*

Отделяемое, биопсийный материал из ран

- *Aspergillus*
- *Candida*

Возбудители грибковых инфекций

- Возбудители поверхностных микозов;
- Возбудители дерматомикозов;
- Возбудители подкожных микозов;
- Возбудители глубоких микозов (первично-патогенные микромицеты, возбудители оппортунистических инфекций).
- Возбудители псевдомикозов.

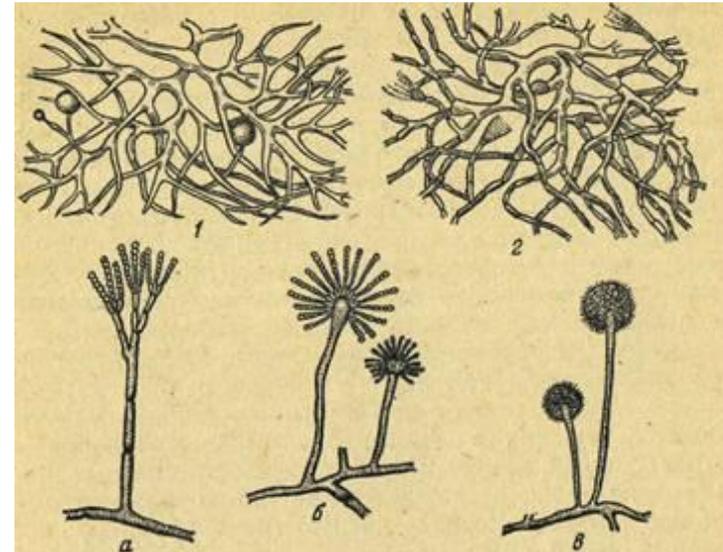
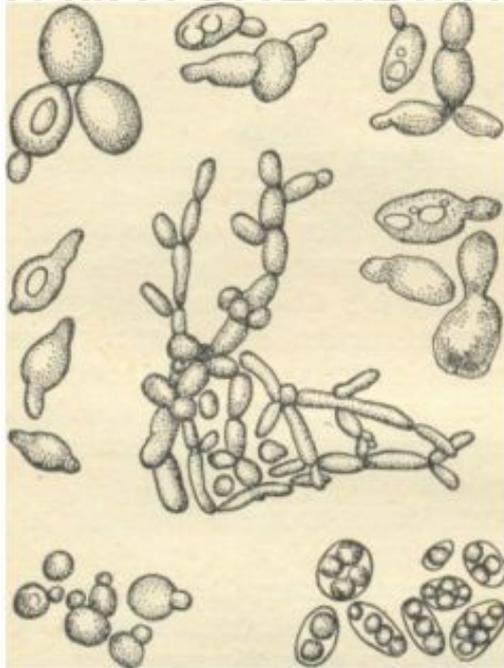
Классификация грибов

**Истинные грибы - эумицеты,
подразделяют на 4 класса:**

- хитридиомицеты,
- зигомицеты,
- аскомицеты (филаментирующие и дрожжевые аскомицеты),
- Базидиомицеты (в том числе и шляпочные грибы с септированным мицелием).

- Хитридиомицеты и зигомицеты относятся к низшим грибам – их мицелий не септирован (или редко и неравномерно септирован), в составе клеток присутствует хитин, но отсутствует глюкан-маннановый комплекс полисахаридных веществ, характерных для высших септированных грибов (аскомицетов и базидиомицетов). Хитридиомицеты не патогенны для человека и животных.
- Среди зигомицетов следует выделить возбудителей микозов у человека – виды родов *Mucor*, *Rhizopus*, *Absidia*, *Basidiobolus*.
- К классу аскомицетов относят возбудителей большинства важнейших микозов: кандидоза, дерматофитозов, гистоплазмоза, бластомикозов, некоторых мицетом.
- К классу базидиомицетов относятся такие возбудители, как *Cryptococcus neoformans*, *Malassezia* spp., *Trichosporon* spp., *Rhodotorula* spp., *Schizophyllum commune* (к базидиальным грибам относятся также микромицеты – шляпочные грибы).
- В медицинской микологии выделен еще класс дейтеромицетов (*Fungi imperfecti* - грибы несовершенные).

Выделяют два типа роста грибов – дрожжевой и мицелиальный (гифальный),

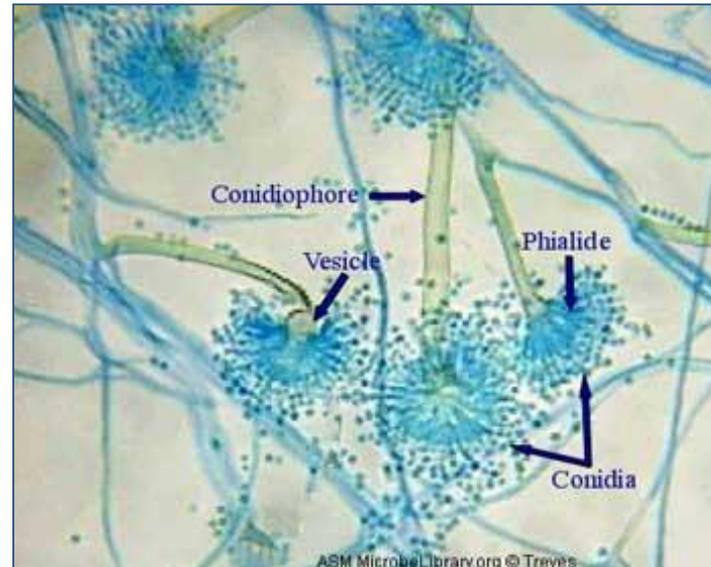
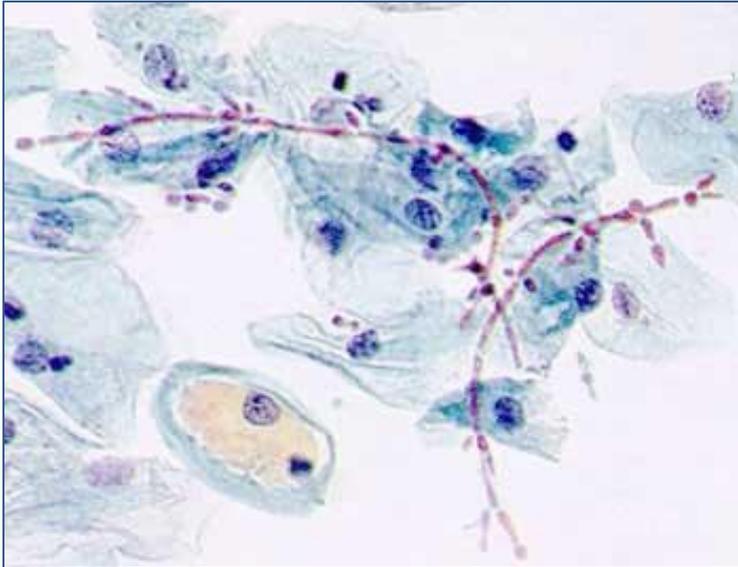


Низшие: гифы без перегородок, высшие – септированы.

В основу классификации дрожжей положена их способность к спорообразованию. По этому признаку дрожжи делят на спорообразующие (или истинные дрожжи) и бесспорные (или дрожжеподобные), которые способны только к почкованию.

- Споры могут возникать в результате полового процесса - слияния двух ядер, содержащих по гаплоидному набору хромосом (слияние гамет). Слившиеся гаметы формируют диплоид, который затем подвергается редукционному делению (мейоз) с последующим образованием гаплоидных клеток - спор.

Микроскопия грибов:



Дрожжеподобный гриб рода *Candida* образует псевдомицелий (фиолетовые клетки).

Высшие грибы рода *Aspergillus*

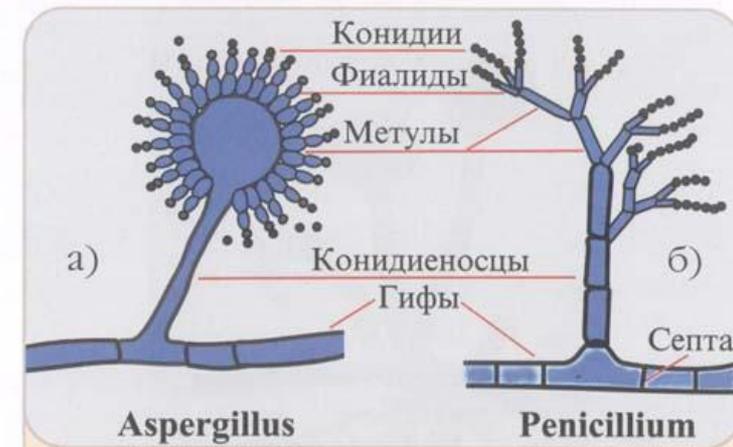
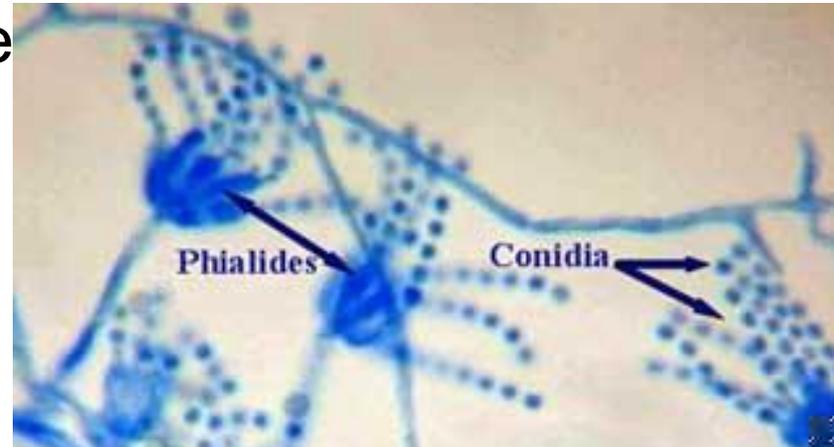
Для обнаружения морфологических элементов гриба - дрожжевых клеток, псевдомицелия, мицелия, конидиеносцев, конидий, тканевых форм глубоких микозов - патологический материал исследуют в нативных и окрашенных препаратах.

Размножение грибов

Размножение: половое и бесполое (вегетативное).

Наличие **конидий** (или экзоспор), являющихся формами **неполового размножения**. Их наиболее частые формы - **бластоспоры, хламидоспоры, артроспоры, конидиоспоры**.

Основное функциональное отличие спор у бактерий и грибов: у бактерий споры обеспечивают переживание в неблагоприятных условиях окружающей среды, у грибов образование спор - способ размножения.



- Грибы, имеющие половое размножение – **совершенные** (зигомицеты, аскомицеты, базидиомицеты).

Половое размножение – с образованием гамет, половых спор. **Телеоморфа** — форма полового спороношения грибов.

Предназначена для рекомбинации генов и сохранения гриба в неблагоприятных условиях. **Анаморфа** — бесполовая стадия развития гриба (и почкование, и бесполое споры).

- **Несовершенные** (дейтеромицеты). К несовершенным грибам относят возбудителей микозов, в цикле развития которых неизвестны стадии полового размножения.

Контагиозные и оппортунистические грибковые инфекции

- Контагиозные микозы часто эндемичны: кокцидиоидоз характерен для стран с жарким сухим климатом (Центральная Америка, Мексика, Калифорния, Аргентина)., гистоплазмоз, вызываемый *Histoplasma duboisii*, - в западной и центральной Африке, риноспоририоз - в Индии и на Цейлоне. Североамериканский бластомикоз (болезнь Джилкрайста) и Южноамериканский бластомикоз (паракокцидиоидоз) названы по месту обнаружения и распространения – Южной и Северной Америке соответственно.

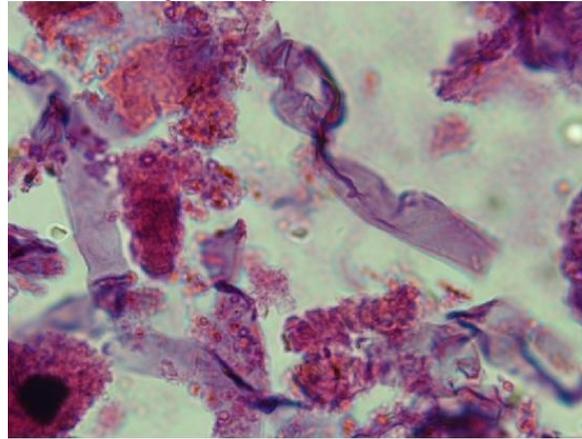
Грибковые оппортунистические инфекции, вызываемые условно-патогенными грибами

развиваются на фоне разнообразных иммуносупрессивных состояний. (Загрязнение окружающей среды, повышение радиационного фона, использование в медицине иммуносупрессантов, цитостатиков, кортикостероидов, антибиотиков широкого спектра действия –ослабляют естественные защитные механизмы человека). Микозы составляют 70% в структуре клинических проявлений ВИЧ-инфекции наряду с другими инфекционными осложнениями . Осложнения (микозы) при лечении пациентов с различными новообразованиями при применении цитостатиков. Возможности полихимиотерапии опухолей и гемобластозов позволяют продлить жизнь больных, но в то же время у 50% этих больных обнаруживают микотические осложнения, некоторые из которых являются причиной летальности у таких пациентов (например, инвазивные кандидоз или аспергиллёз).
Внутрибольничные инфекции грибковой природы.

Зигомицеты возбудители

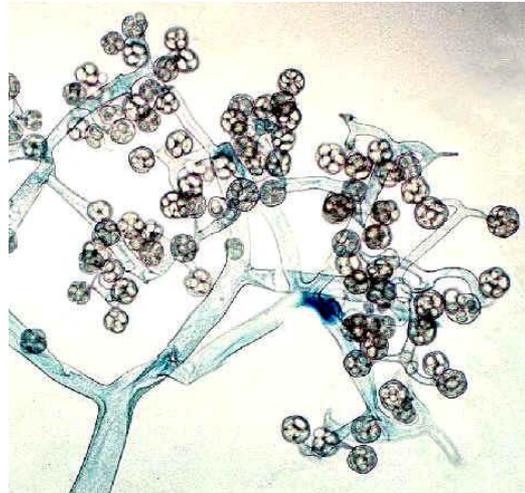
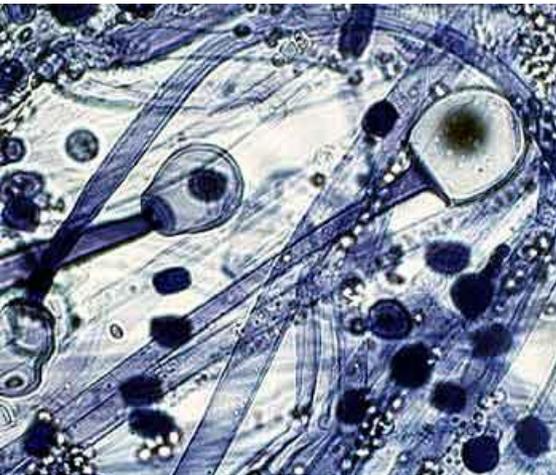
мукоормикозов.

Гриб рода *Rhizopus* – в чистой культуре и в биоптате (заболевание мукоормикоз).



Мицелий не разделен, Отсутствие перегородок мицелия облегчает быстрый рост и споруляцию, позволяя свободно поглощать и перемещать питательные вещества вместе с клеточными органеллами между участками роста, в то же время это - также существенное слабое место, так как при этом мицелиальные элементы являются более склонными к физическому повреждению и последующей гибели по сравнению с септированным мицелием.

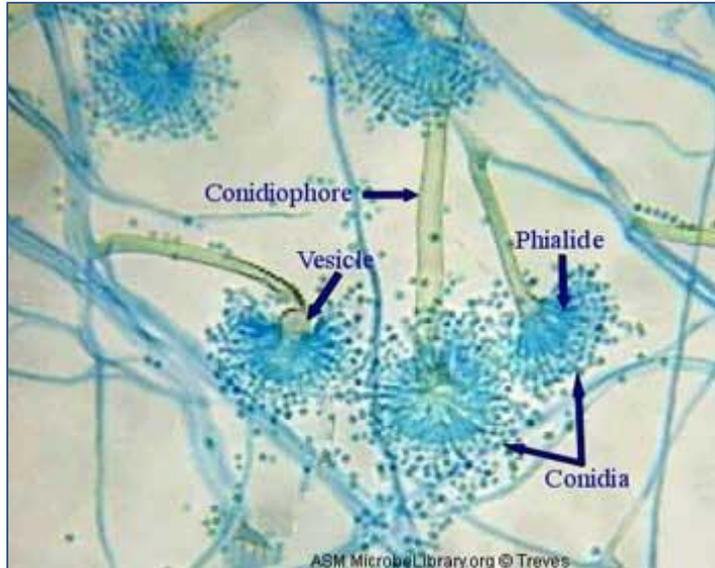
Гриб рода *Mucor*



Половое размножение – зигоспоры,

бесполое – спорангоспоры

Аскомицеты

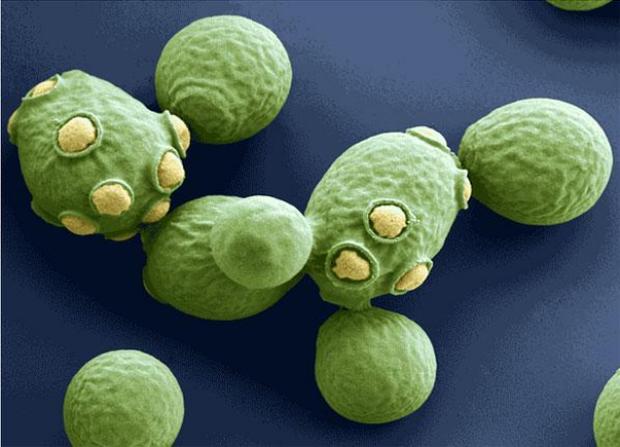


Мицелий разделён поперечными перегородками (септирован), что позволяет гифе в случае повреждения терять меньше клеточного содержимого и обуславливает выживаемость.

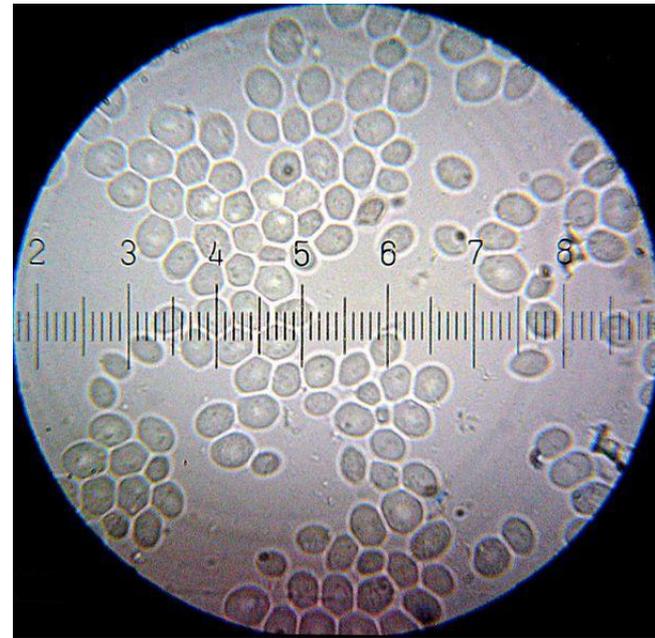
Обладают специфическими органами полового спороношения — сумками (*асками*), содержащими чаще всего по 8 аскоспор. Имеют и бесполое спороношение, причём во многих случаях половой процесс утрачивается, и такие виды грибов относят к несовершенным грибам (*Aspergillus* и *Penicillium*).

Saccharomycetes - аскомицетные

Дрожжи



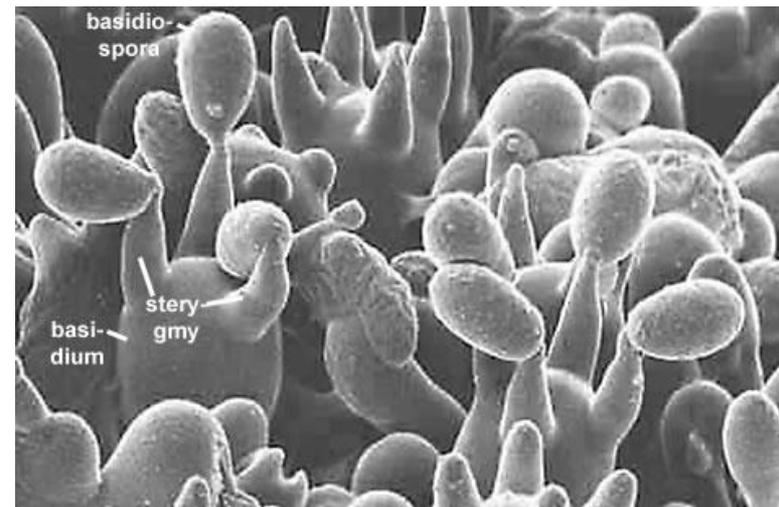
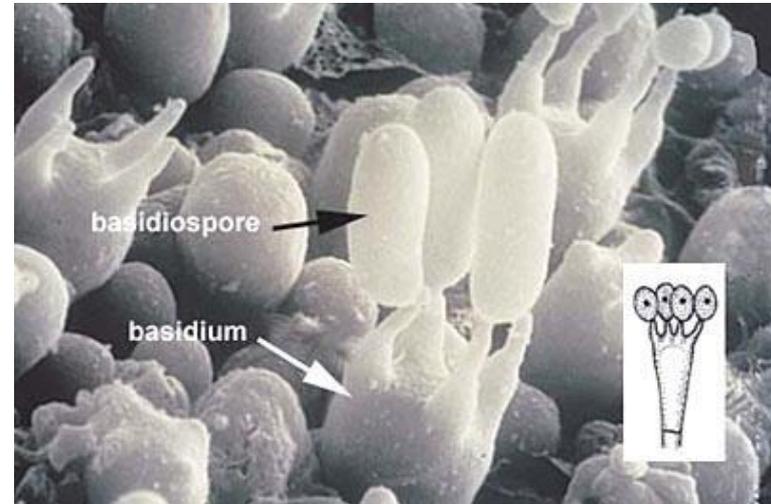
Спиртовое брожение — химическая реакция брожения, осуществляемая дрожжами (*Saccharomyces cerevisiae*), в результате которой одна молекула глюкозы преобразуется в 2 молекулы этанола и в 2 молекулы углекислого газа.



Способны вызывать дрожжевые микозы

Базидиомицеты

Мицелий базидиомицетов септирован, каждая клетка содержит по два гаплоидных ядра. Обычно ядра расположены рядом посередине клетки, их пара носит название *дикарион*. Возле септы у грибов базидиомицетов формируется *пряжка*, участвующая в делении клетки. Пряжка — тонкий вырост из одной клетки гриба, примыкающий к другой соседней клетке, но не сливающийся с ней. При делении клетки ядра синхронно удваиваются и пряжка позволяет оказаться в одной клетке ядрам, сформировавшимся из разных исходных. Споры - в булавовидных структурах, именуемых *базидии*.



Дейтеромицеты

Несовершенные грибы: это понятие сборное. К несовершенным грибам относят возбудителей микозов, в цикле развития которых неизвестны стадии полового размножения. По мере накопления знаний многие представители из *Fungi imperfecti* могут быть включены в классы совершенных грибов. В связи с этим выделено такое понятие, как грибы, обладающие аффинитетом (лат. *affinitas* — родство, связь) к тому или иному известному классу эумицетов. Половая стадия у них до сих пор не найдена, но по характеру метаболизма, по химическому составу стенок, по рибосомальной последовательности РНК эти грибы следует отнести к эумицетам определенного класса (к зигомицетам, аскомицетам, базидиомицетам)

Дейтеромицеты

- Образуют септированный мицелий, размножаются ТОЛЬКО бесполом путём (конидии).
- Дрожжеподобный гриб рода *Candida* – образует псевдогифы в виде цепочек удлинённых клеток и септированные гифы. Для *Candida albicans* характерно образование хламидоспор (споры с двойной плотной оболочкой) на концах или на коротких боковых отростках гиф. Хламидоспоры служат *C. albicans* для переживания неблагоприятных условий.
- Морфологическая трансформация «дрожжевая — гифальная форма» (yeasts — hyphae), которая также может облегчить кандидам проникновение в ткани и помогает микроорганизму обходить защитные системы хозяина.



Строение и классификация простейших

Морфологическая характеристика простейших.

Простейших изучает наука *протозоология*.

Простейшие имеют эукариотическое строение клетки и значительно более сложную функциональную и морфологическую организацию по сравнению с бактериями и грибами.

- Снаружи тело покрывает эластичная и ригидная *пелликула*, образованная внешним слоем цитоплазмы.
- У некоторых видов клеточная мембрана может включать опорные фибриллы и даже минеральный скелет.
- Могут иметь несколько ядер.
- Многие способны активно двигаться за счет псевдоподий, жгутиков или ресничек.
- Жизненный цикл паразитических простейших нередко включает образование промежуточных форм в различных хозяевах.

Размножение: половым и бесполом путём.

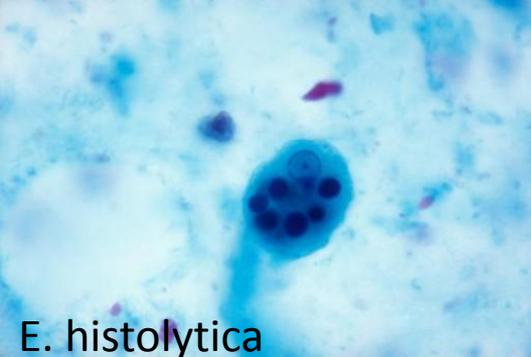
- Бесполое: шизогония – процесс, характеризующийся многократным делением ядра и последующим распадением клетки на множество дочерних клеток.
- Половое: спорогония - содержимое зиготы, образующейся при слиянии половых клеток, подвергается повторному делению, в результате которого образуется несколько спорозоитов (одноклеточных зародышей).

Основные классы простейших:

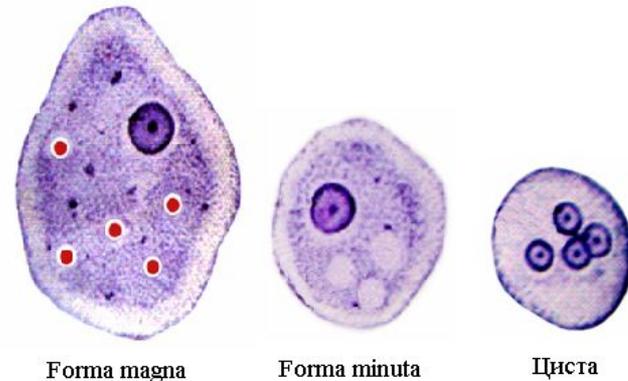
1. **Саркодовые** или **амебы**- наиболее просто устроенные простейшие,
2. **Споровики** (малярийные плазмодии, токсоплазмы, пневмоцисты, бабезии),
3. **Жгутиконосцы** (трихомонады, лейшмании),
4. **Реснитчатые** (балантидии)

Простейшие очень широко распространены: малярийными плазмодиями и токсоплазмами в сумме поражено до трети населения земного шара.

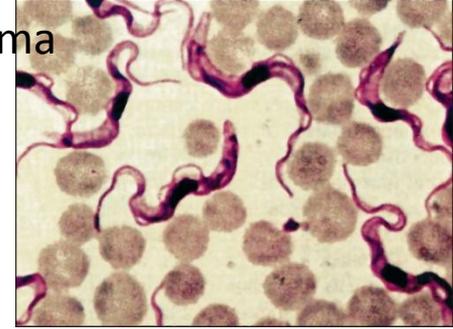
Известно около 7 тысяч видов простейших, патогенных для различных растений, животных, человека, непатогенных- во много раз больше.



Амёбы



Дизентерийная амёба (вызывает амёбиаз) – различают малую вегетативную (просветную, *minuta*) форму – безвредную (здоровое носительство), большую вегетативную (тканевую, *magna*) форму – патогенную и цистную форму – покоящуюся стадию. Выявление: микроскопия мазка испражнений больного, окрашенного раствором Люголя. Морфологически *E. histolytica* неотличима от непатогенных ВИДОВ.



Жгутиконосцы



Трихомонад

а



Leishmania donovani

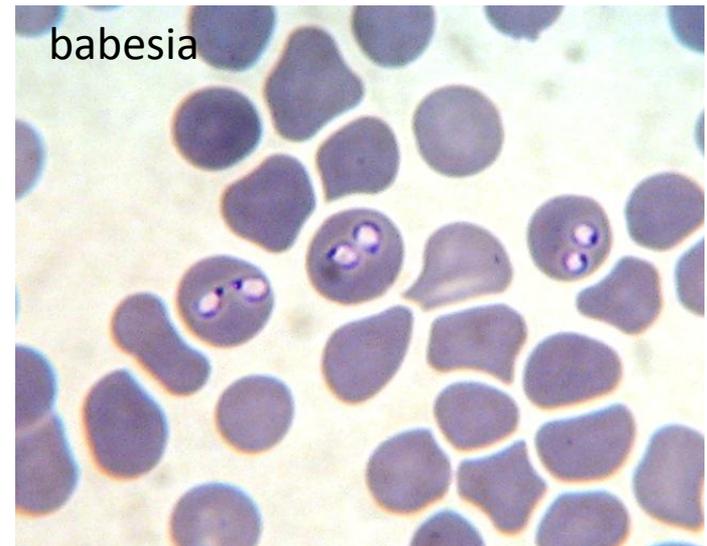
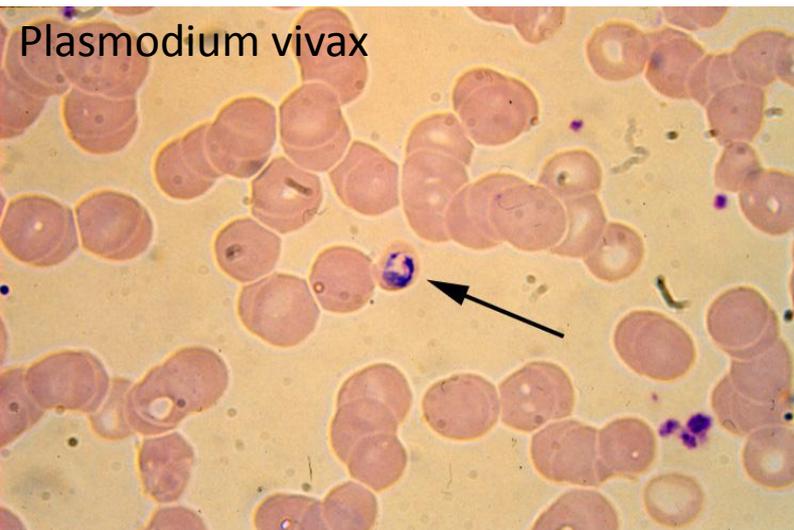
Простейшие с одним или несколькими жгутиками, а в некоторых случаях с ундулирующей мембраной.

По локализации в теле человека болезнетворные жгутиконосцы делят:

- Крови и тканей (лейшмании - *L. tropica*, *L. donovani*, *L. braziliensis*, трипаносомы – возбудители сонной болезни *Trypanosoma brucei*, передаваемая кровососущей мухой цеце)
- Кишечника (лямблии *Giardia lamblia*)
- Мочеполовой системы (трихомонады *Trichomonas vaginalis*)

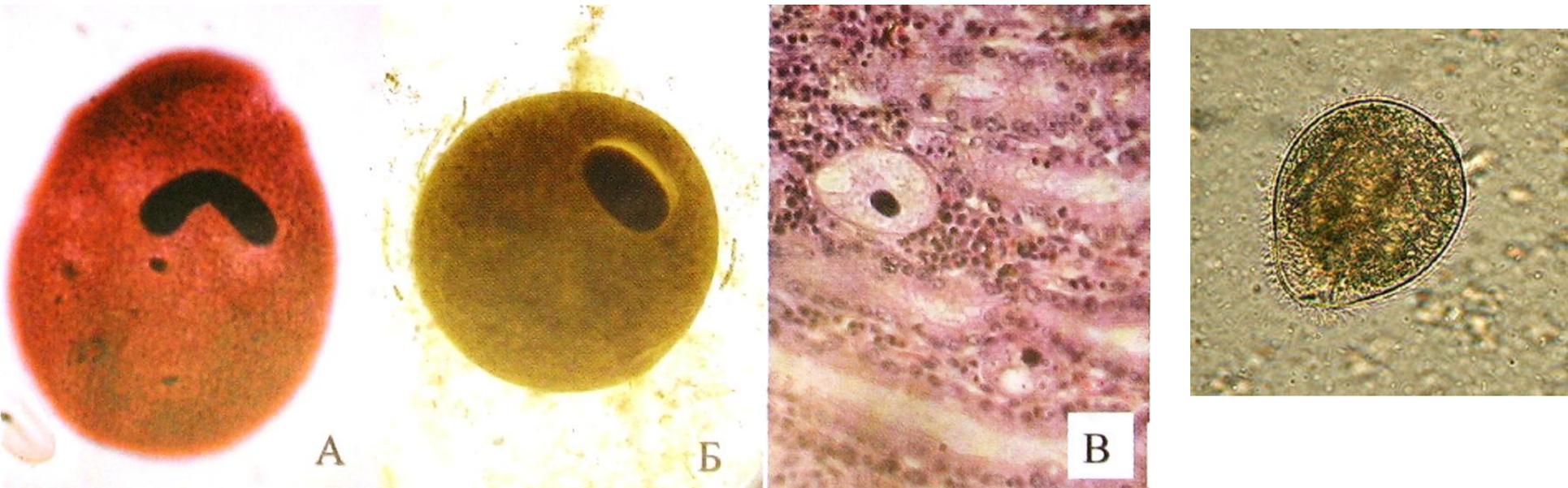
Споровики

- Крови (плазмодии малярии и бабезии)
- Кишечника и тканей (токсоплазма, криптоспоридии, саркоцисты, изоспоры, циклоспоры)



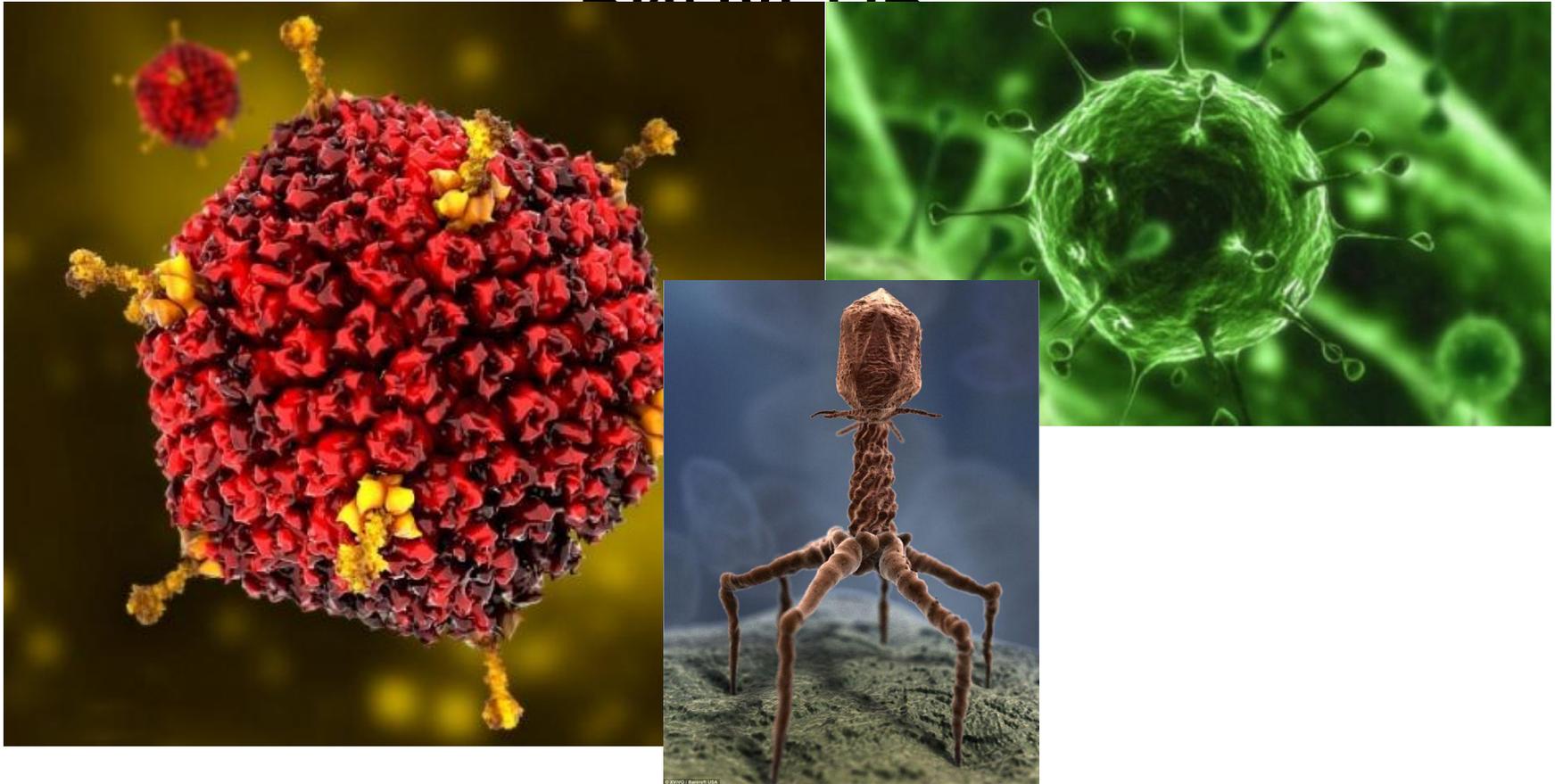
Реснитчатые

Балантидии (греч. *balantidion* – маленький мешок) – балантидиазная (инфузорная) дизентерия (толстый отдел кишечника) – самый крупный представитель паразитических простейших (до 200 мкм в длину и до 70 мкм в ширину).



А- вегетативная форма, Б- циста, В – балантидий в тканях слепой кишки

Строение и классификация ВИРУСОВ



Вирусы (*лат. virus* — «яд») это мельчайшие микроорганизмы, которые могут воспроизводиться только внутри живых клеток (облигатные внутриклеточные паразиты).

Вирусы поражают все типы организмов от растений и животных до бактерий и архей.

Содержат один тип нуклеиновой кислоты (ДНК или РНК).

Вирусная частица называется вирионом.

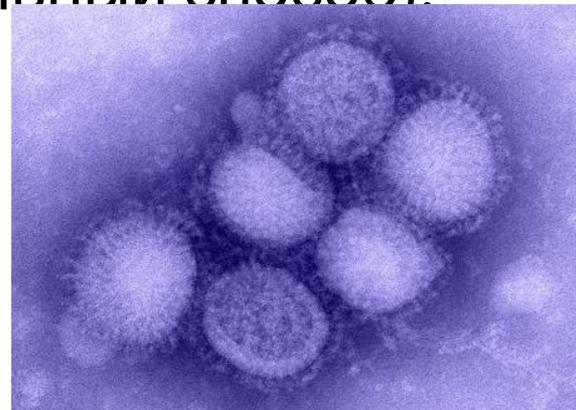
Вирион включает в себя все характерные составные элементы: капсид, нуклеиновую кислоту, структурные белки, ферменты.

Внутриклеточная форма вируса может быть представлена лишь одной молекулой нуклеиновой кислоты.

У некоторых вирусов различают особую стадию - провирус, когда нуклеиновая кислота встроена в геном клетки-хозяина.

Разобщенный способ размножения: отдельно синтезируются вирусные нуклеиновые кислоты, отдельно – их белки, а затем происходит сборка в вирусные частицы (дизъюнктивный способ).

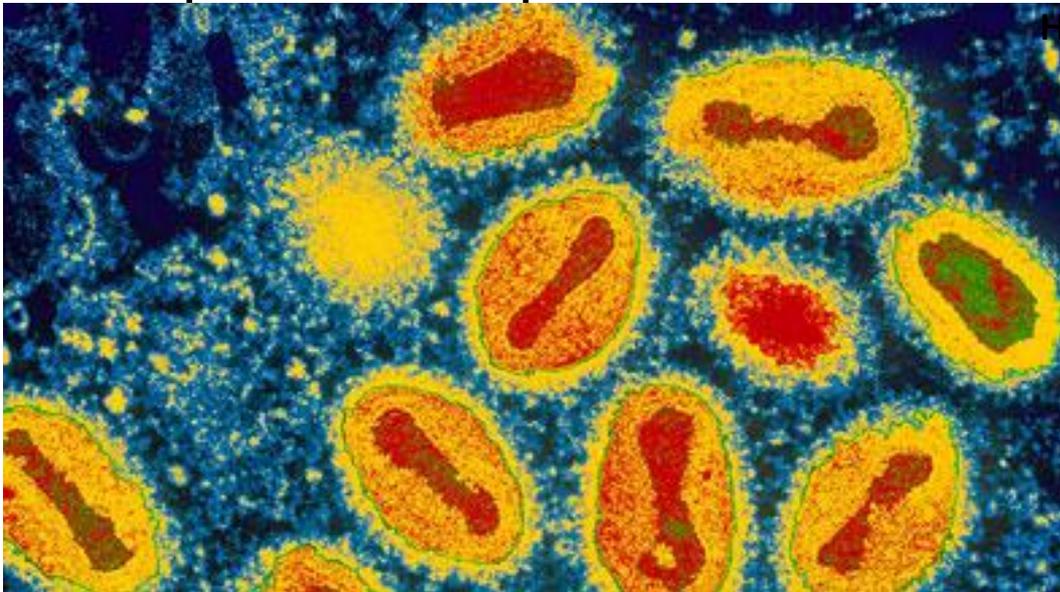
Вирус
гриппа



По морфологии выделяют вирусы палочковидные (табачной мозаики), пулевидные (вирус бешенства), сферические (ВИЧ, полиомиелита), овальные, комбинированные.

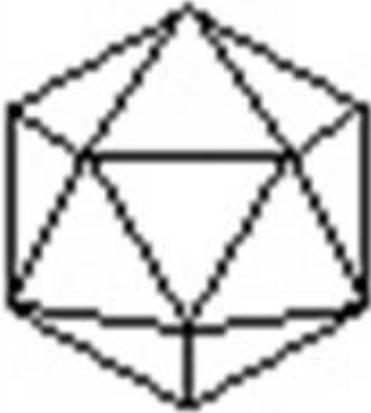
По размерам вирусы бывают от крупных (до 400 нм), вирус натуральной оспы, до мелких (20-30 нм), вирус полиомиелита – метод изучения морфологии: электронная микроскопия.

Вирус оспы (крупный, ок. 350 нм).



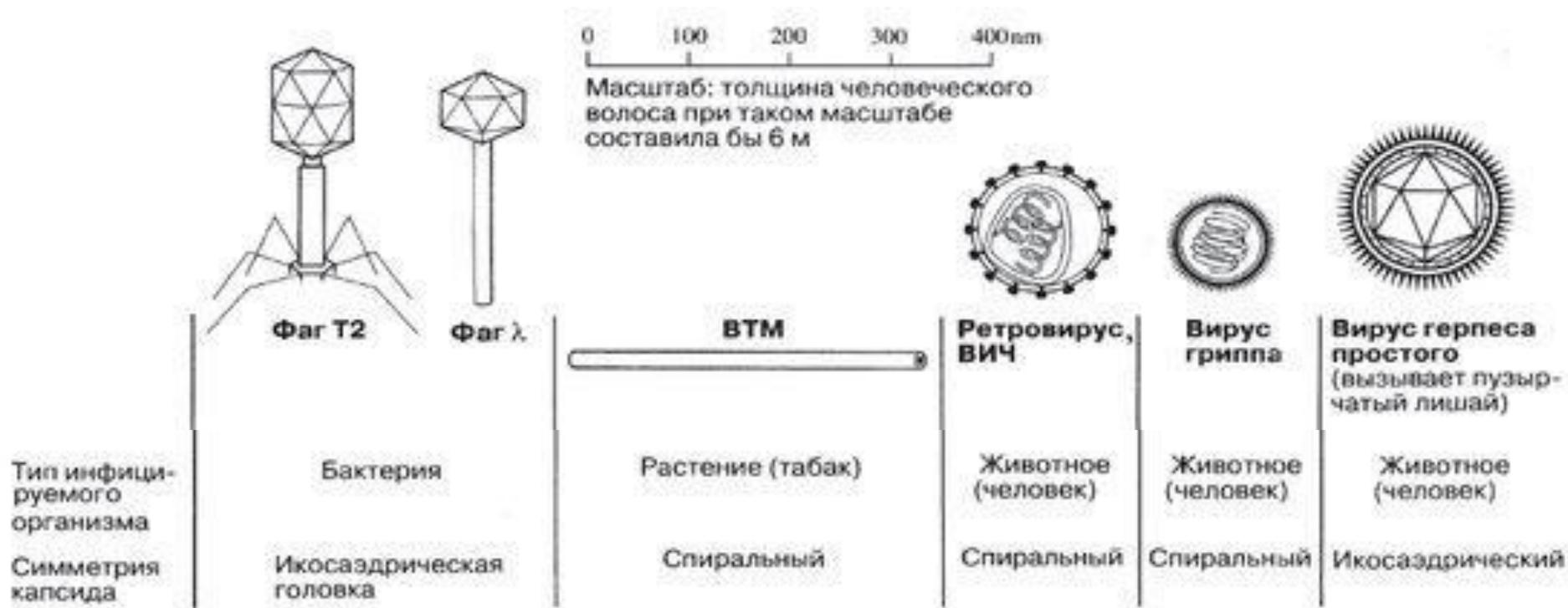
Размер определяют также, фильтруя через фильтр с известным диаметром пор (ультрафильтрация).

Простые и сложные вирусы:



Простые вирусы содержат нуклеиновую кислоту и несколько кодируемых ею полипептидов, образующих капсид (оболочку), состоящий из капсомеров. Капсид и НК образуют нуклеокапсид.

Сложные вирусы состоят из нуклеиновой кислоты, липидов и углеводов, которые имеют клеточное происхождение, т. е. у множества вирусов они не кодируются вирусным геномом. Снаружи капсида располагается суперкапсид. На поверхности суперкапсида – гликопротеиновые шипики, под оболочкой может находиться матриксный белок.



У двунитевых как ДНК-, так и РНК-содержащих вирусов информация обычно записана только в одной цепи, чем достигается экономия генетического материала.

РНК-вирусы

- генетическая информация закодирована в РНК. РНК может быть одно и двуцепочечной, а клетка-хозяин – прокариотической или эукариотической. Только вирусы с одноцепочечной РНК заражают бактерии, а эукариотические вирусы могут быть как одно - так и двухцепочечными.
- С положительным (плюс-нить РНК) геномом: плюс-нить РНК выполняет наследственную функцию и функцию иРНК. Эти вирусы включают большую группу вирусов (пикорнавирусы, флявивирусы, тогавирусы).
- С отрицательным (минус-нить РНК) геномом: минус-нить РНК выполняет только наследственную функцию (рабдовирусы, парамиксовирусы, ортомиксовирусы) имеют в своем составе РНК-зависимую РНК-полимеразу. Проникшая в клетку геномная минус нить РНК трансформируется вирусной РНК-зависимой РНК-полимеразой в неполные и полные плюс нити РНК. Неполные копии выполняют роль иРНК для синтеза вирусных белков. Полные копии являются матрицей (промежуточная стадия) для синтеза минус-нитей геномной РНК потомства.

РНК-вирусы

Двунитевые РНК-вирусы. Механизм репликации этих вирусов (реовирусов и ротавирусов) сходен с репликацией минус-однонитевых РНК-вирусов. Отличие состоит в том, что образовавшиеся в процессе транскрипции плюс нити функционируют не только как иРНК, но и участвуют в репликации: они являются матрицами для синтеза минус нитей РНК. Последние в комплексе с плюс нитями РНК образуют геномные двунитевые РНК вирионов. Репликация вирусных нуклеиновых кислот этих вирусов происходит в цитоплазме клеток.

ДНК-вирусы

Вирусные ДНК могут быть линейными (как у эукариотов) или кольцевыми (как у прокариотов), однако в отличие от ДНК тех и других она может быть представлена однонитевой молекулой.

- Однонитевые ДНК-вирусы. Единственными представителями однонитевых ДНК-вирусов являются парвовирусы.

Поглощенный вирус поставляет геном в ядро клетки.

Парвовирусы используют клеточные ДНК-полимеразы для создания двунитевого вирусного генома, так называемой репликативной формы последнего. При этом на исходной вирусной ДНК (плюс нить) комплементарно синтезируется минус нить ДНК, служащая матрицей в синтезе плюс нити ДНК для новых поколений вирусов. Параллельно синтезируется иРНК, происходит трансляция вирусных белков, которые возвращаются в ядро, где собираются вирионы.

ДНК-вирусы

Двунитевые ДНК-вирусы – содержащие двунитевую ДНК в линейной (например, герпесвирусы, аденовирусы и поксвирусы) или в кольцевой форме (как паповавирусы). Репликация двунитевых вирусных ДНК проходит обычным полуконсервативным механизмом: после расплетения нитей ДНК к ним комплементарно достраиваются новые нити. У всех вирусов, кроме поксвирусов транскрипция вирусного генома происходит в ядре.

Методы микробиологической диагностики вирусных инфекций



Микроскопический метод.

- а) обнаружение в исследуемом материале с помощью специальных методов окраски внутриклеточных телец - включений. Например, при бешенстве (тельца Бабеша - Негри), герпетической инфекции, при ветряной оспе др.,
- б) обнаружение возбудителя в пораженной ткани с помощью флюоресцирующих антител (РИФ),
- в) обнаружение возбудителя с помощью электронной микроскопии. Этот метод требует достаточно высокой концентрации возбудителя в пораженной ткани. Поэтому отрицательные результаты не являются диагностически значимыми.

Вирусологический метод. Для выделения чистой культуры вируса используют следующие методы:

- а) заражение куриных эмбрионов,
- б) заражение культур клеток

Биологический метод.

Заражение чувствительных к данному вирусу лабораторных животных исследуемым материалом с целью воспроизведения заболевания или последующего выделения вируса.

Серологический метод.

Обнаружение противовирусных антител в сыворотке больного или реконвалесцента. При серологической диагностике вирусных инфекций широко используют следующие реакции: РСК- реакция связывания комплемента, РТГА- реакция торможения гемагглютинации, РИФ- реакция иммунофлюоресценции, РБН- реакция биологической нейтрализации вируса, РИА- радиоиммунный анализ, ИФА- иммуноферментный анализ. РИА и ИФА отличаются наибольшей чувствительностью по сравнению с другими серологическими реакциями. Серологические методы просты и позволяют исследовать большое количество проб за короткий промежуток времени. Этими методами выявляют нарастание антител в парных сыворотках переболевших с помощью набора вирусных диагностикумов (антгенов). У больного сыворотку берут в начале заболевания и затем через 2-4 недели. Поэтому называются эти сыворотки парные, т.е. две (пара) сыворотки. Парные сыворотки исследуют совместно, начиная с разведений 1:10. Показателем свежеперенесенной инфекции является не менее чем четырехкратное нарастание титра антител во второй сыворотке.

Молекулярно- генетический.

- а) ДНК- зонд диагностика, б) ПЦР - диагностика.

Вирус бешенства (к практикуму)

Обнаружение специфических телец-включений. Мазки-отпечатки окрашивают по Селлерсу, Муромцеву или другими методами. После окрашивания препараты просматривают в световом микроскопе с иммерсионной системой. Положительным результатом считают наличие специфических **телец Бабеша - Негри** (при окраске по Селлерсу - четко очерченные овальные или продолговатые гранулярные образования розово-красного цвета в протоплазме, при окраске по Муромцеву - светло-фиолетовые с темно-синими включениями тельца Бабеша - Негри, чаще они расположены вне нервных клеток).

Наиболее характерная особенность телец Бабеша - Негри - их внутренняя структура, позволяющая точно дифференцировать их. Внутри видны маленькие зернышки - базофильные зернистости темно-голубого, даже черного цвета величиной 0,2-0,5 мкм.

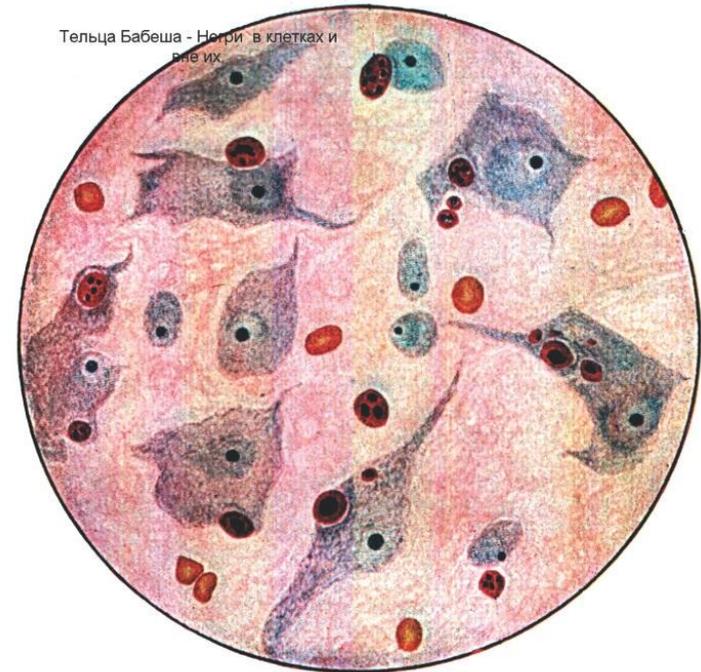


Рис. 2. Тельца Бабеша-Негри в нервных клетках и вне их

ОСОБЕННОСТИ ВИРУСОВ:

- Вирусные частицы содержат **нуклеиновую кислоту только одного типа**- ДНК или РНК. Все другие живые организмы содержат два типа нуклеиновых кислот (ДНК и РНК).
- У вирионов отсутствуют собственные белоксинтезирующие и энергообразующие системы. У них **нет рибосом**. Они используют рибосомы клеток хозяина.
- **Абсолютный паразитизм.**
- Вирионы **не способны к росту и бинарному делению**. Вирусы размножаются особым способом, который отличается от способов размножения всех других организмов. Их способ размножения называется дизъюнктивная (т.е. разобщения) репродукция.
- Таким образом, термин «вирус» означает внеклеточную своеобразную форму жизни, обладающую собственным геномом и способную к воспроизведению лишь в клетках более высокоорганизованных существ.

Прионы, вириоды.

- Прионы – особые инфекционные агенты, представленные белками с аномальной третичной структурой и не содержащие нуклеиновых кислот. Такой белок способен катализировать конформационное превращение гомологичного ему нормального клеточного белка в себе подобный (прион).
- Прионы вызывают трансмиссивные губчатые энцефалопатии (ТГЭ) у различных млекопитающих (коровье бешенство и др.)
- Вириоды - инфекционные агенты, состоящие только из кольцевой РНК. Они вызывают различные болезни растений.

Ребус:

1.

2.

3.

4.

5.

Выбираем **первую** букву от слов-ответов на вопросы:

1. Греческое слово «teichos» в переводе на русский.
2. Гениальный французский ученый, опровергший теорию самозарождения жизни (и сделавший массу других выдающихся открытий).
3. Наружный антиген липополисахаридной природы, по которому можно дифференцировать микроорганизмы.
4. Мелкие грамотрицательные палочковидные бактерии, облигатные внутриклеточные паразиты. Вызывают эпидемический сыпной тиф.
5. Компонент наружной мембраны, практически одинаковый у грамотрицательных бактерий, липид, обладающий высокой биологической активностью.

ГЛОССАРИЙ

1. Микология
2. Дрожжевые грибы
3. Дрожжеподобные грибы
4. Гифальный рост
5. Мицелий
6. Совершенные грибы
7. Несовершенные грибы
8. Септа (у грибов)
9. Протозоология
10. Вирион
11. ДНК-вирусы
12. РНК-вирусы

Вопросы для устного опроса по материалу лекции:

1. Простейшие. Какая наука изучает? Размеры клетки простейших. Особенности строения простейших. Пример патогенных видов.
2. Грибы. Какая наука изучает? Размеры клетки грибов. Особенности строения грибов. Пример патогенных видов.
3. Вирусы. Какая наука изучает? Размеры вирусов. Особенности строения. Классификация вирусов. Пример патогенных видов.