

Структура клеток микроорганизмов

Методы выявления органоидов и включений

Отличия прокариотической клетки от эукариотической

Генетический материал		
Расположение	Нет мембраны, ограничивающей его от цитоплазмы	Ограничено от цитоплазмы ядерной мембраной
Форма	Кольцевая молекула ДНК	Хромосома
Внехромосомная ДНК	Расположена в плазмидах	Расположена в митохондриях
Гистоны	Есть гистоноподобные белки	Имеются гистоны
Тип деления	Бинарное	Митоз
Синтез белка		
Рибосомы	70S(50S и 30S)	80S (60S и 40S)
Место синтеза	Рибосомы свободно расположены в цитоплазме	Рибосомы в составе шероховатой ЭПС
Клеточная стенка		
Структурные элементы	Пептидогликан	Хитин или целлюлоза
Стероиды	Отсутствуют	Имеются

Методы выявления капсулы.

Метод окраски по Бурри-Гинсу

- Смешать каплю взвеси бактерий с каплей туши, сделать мазок, высушить и зафиксировать.
- На мазок нанести водный раствор фуксина (на 1-2 минуты) промыть водой, высушить и микроскопировать.

Бактерии окрашиваются в розовый цвет, а неокрашенные капсулы контрастно выделяются на черно-розовом фоне.



Метод окраски по Цилю-Ние

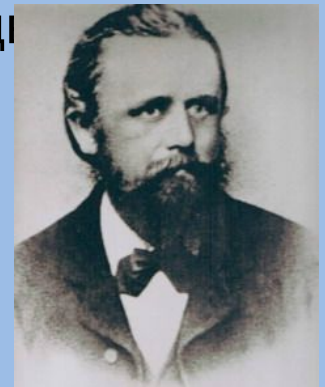
льсену

- Нанести на мазок карболовый раствор фуксина и подогреть до появления паров в течение 3 - 5 минут,
- промыть водой нанести 5% раствор H_2SO_4 на 1-2 минуты
- промыть водой докрасить мазок водным раствором метиленового синего в течение 3-5 минут
- промыть водой, высушить и микроскопировать.

Раствор карболовой кислоты разрушает поверхностные структуры бактерий и тем самым повышает их тинкториальные свойства, при этом вегетативные формы окрашиваются в красный цвет



Циль Франц (Franz Ziehl) (1857-1926) немецкий бактериолог, профессор в Любеке. Продолжая работы Пауля Эрлиха, Франц Циль создал в 1882 году карболфуксиновый - краситель для окрашивания возбудителя туберкулёза. В 1883 году совместно с патологом Фридрихом Нельсеном разработал метод окраски, который используется для идентификации кислотоустойчивых микобактерий.

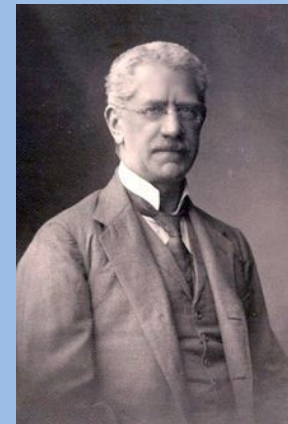
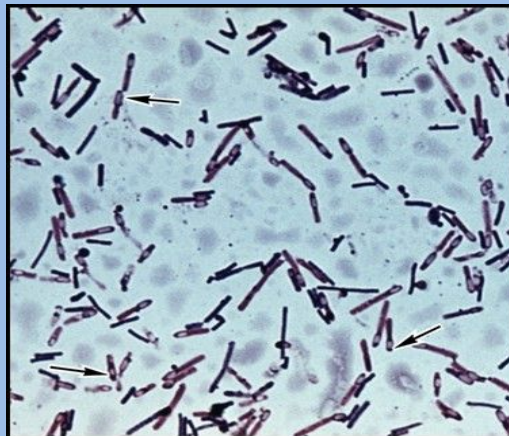


Фридрих Карл Адольф Нельсен (Friedrich Carl Adolf Neelsen (1854-1898) — немецкий патолог.

Метод окраски по Ожешко (и)

- На нефиксированный мазок нанести 0,5% раствор HCl и подогреть на пламени 2-3 минуты кислоту слить, препарат промыть водой, просушить, зафиксировать
- затем окрасить по Цилю-Нильсену

Раствор карболовой кислоты разрушает оболочку спор и тем самым повышает её тинкториальные свойства, при этом споры и вегетативные формы окрашиваются в красный цвет. При обработке препарата серной кислотой вегетативные формы обесцвечиваются и окрашиваются метиленовым синим в голубой цвет, а споры остаются красными.

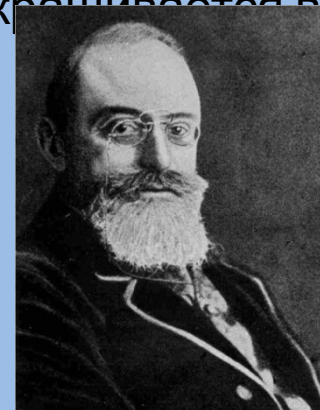


Aladár Aujeszky (1869 – 1933) – венгерский патолог. Преподавал микробиологию в ветеринарном институте в Будапеште.

Метод окраски зерен волютина по Нейссеру

- На фиксированный мазок нанести ацетат синьки Нейссера на 2 - 3 минуты
- добавить раствор Люголя на 10 - 30 секунд промыть водой
- мазок докрасить водным раствором везувина или хризоидина в течение 30 - 60 секунд
- промыть водой, высушить, микроскопировать желтый цвет.

Зерна волютина имеют щелочную реакцию, поэтому воспринимают ацетат синьки, окрашиваясь в темно-синий цвет. Цитоплазма, имея кислую реакцию, воспринимает везувин и окрашивается в желтый



НЕЙССЕР (Neisser) Альберт Людвиг (1855-1916), немецкий дерматовенеролог.

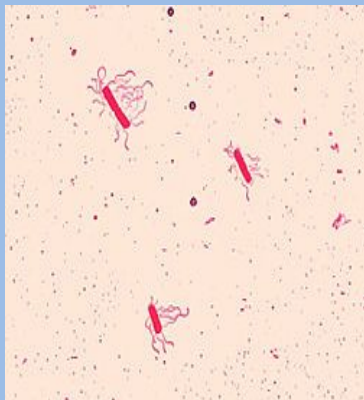
Открыл (1879) возбудителя гонореи. Предложил метод окраски микобактерий

по Нейссеру. Разработал (совместно с А. Дассерманном) метод серологической

Окраска жгутиков по методу Лёффлера

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

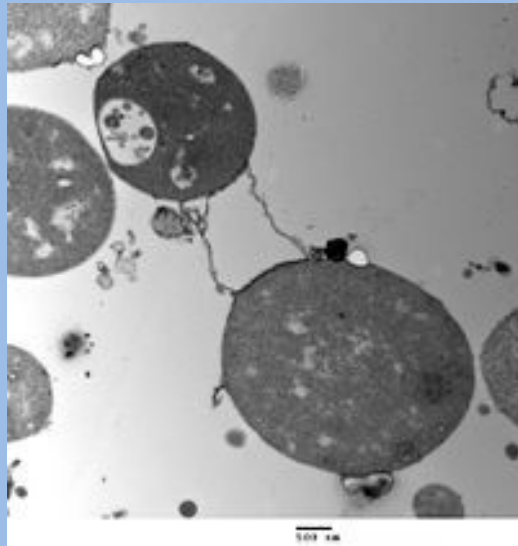
Обращают внимание на расположение жгутиков, их количество и дл



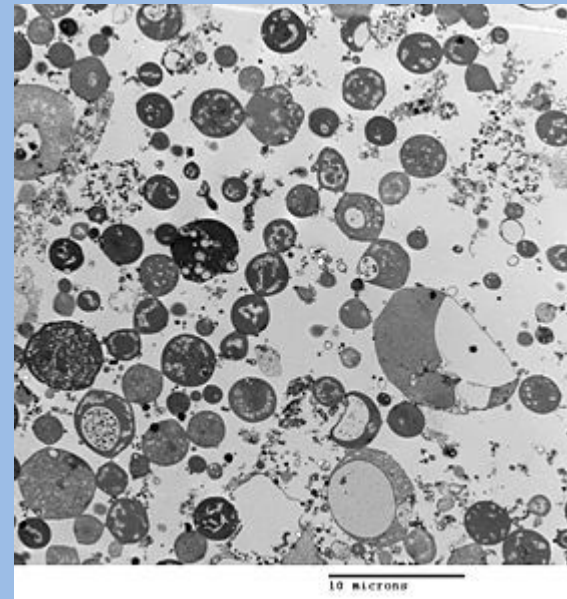
Фридрих Август Иоганн Лёффлер (Friedrich August Johannes Loeffler, 1852—1915) — немецкий бактериолог и гигиенист. Один из основоположников медицинской микробиологии. В 1882 году открыл возбудителя сапа. В 1884 году выделил в чистой культуре возбудителя дифтерии, открытого Эдвином Клебсом (дифтерийная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



L-формы бактерий



L-форма *Bacillus subtilis*, масштаб — 500 нанометров



Многообразие L-форм *Bacillus subtilis*, при масштабе в 10 микрометров.

L-формы бактерий

частично или полностью лишённые клеточной стенки, но сохранившие способность к развитию.

Впервые обнаружены в 1894 году Н.Ф. Гамалеем.

Буква L — первая буква названия Листеровского института в Лондоне, где впервые были выделены L формы в культуре бактерий *Streptobacillus moniliformis*.

Позже были описаны L-формы у самых разных видов бактерий. Было показано, что L-формы возникают спонтанно или индуцировано - под воздействием агентов, блокирующих синтез клеточной стенки: антибиотиков (пенициллины, циклосерин, цефалоспорины, ванкомицин), ферментов (лизоцим, амидаза, эндопептидаза) ультрафиолетовых и рентгеновских лучей, аминокислоты глицина.



Никола́й Фёдорович Гамалея (1859—1949) —врач, микробиолог и эпидемиолог, почётный член АН СССР (с 1940), академик АМН СССР (1945). Лауреат Сталинской премии (1943).

L-формы бактерий

Различают стабильные и нестабильные L-формы бактерий.

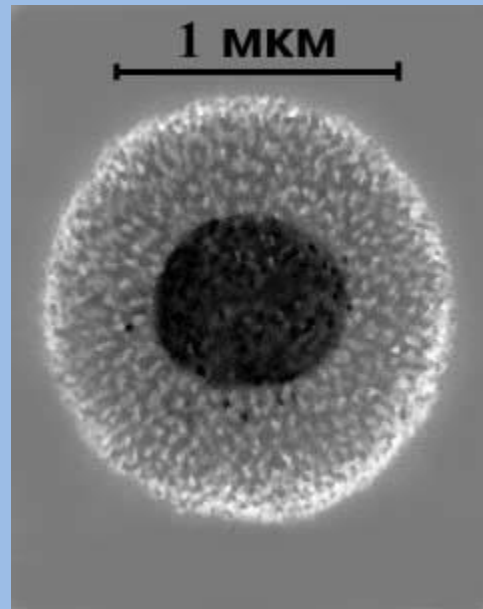
- Стабильные - полностью лишены ригидной клеточной стенки, что сближает их с протопластами; они крайне редко реверсируют в исходные бактериальные формы.
- Нестабильные - могут обладать элементами клеточной стенки, в чем они проявляют сходство со сферопластами; в отсутствие фактора, вызвавшего их образование, реверсируют в исходные клетки.

-

L-трансформация

- Процесс образования L-форм получил название L-трансформации, или L-индукции.
- Способностью к L-трансформации обладают практически все виды бактерий, в том числе и патогенные (возбудители бруцеллеза, туберкулеза, листерии и др.).
- L-формам придается большое значение в развитии хронических рецидивирующих инфекций, носительстве возбудителей, длительной персистенции их в организме. Доказана трансплацентарная инвазивность L-форм бактерий.
- Инфекционный процесс, вызванный L-формами бактерий, характеризуется атипичностью, длительностью течения, тяжестью заболевания, трудно поддается химиотерапии.

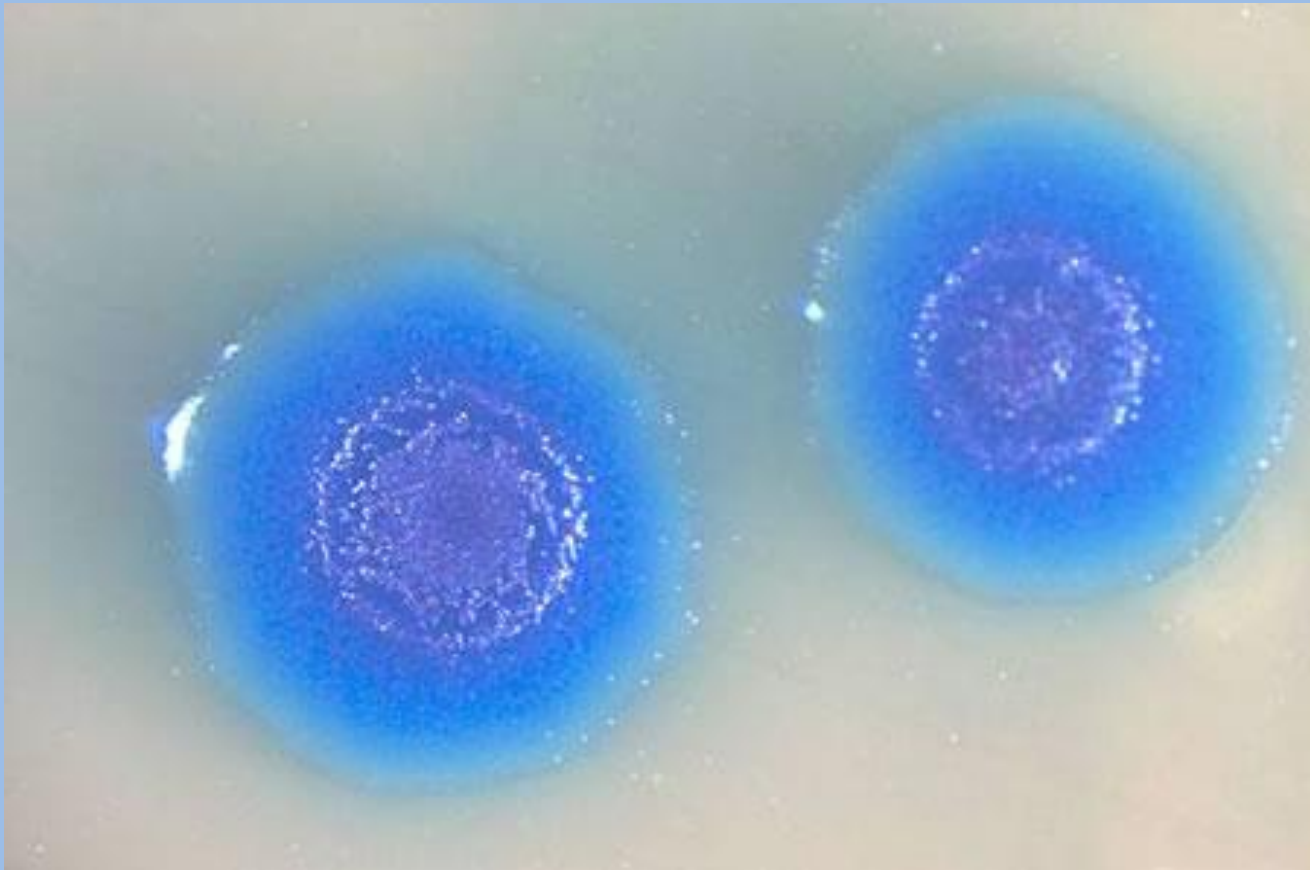
Типичная форма колонии бактерий в L-форме



Полиморфизм клеток *Mycoplasma* sp.



Морфология колоний *Mycoplasma sp.*



Спасибо за внимание!