

К. О. ОВНАНЯН

СУБМИКРОСКОПИЧЕСКАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ
КЛЕЩЕВОГО ВОЗВРАТНОГО ТИФА
BORRELIA CAUCASICA

Несмотря на давность открытия возбудителя клещевого возвратного тифа, морфология этого микроорганизма остается малоизученной. В доступной нам литературе известны имена ряда авторов [2—6, 10], которые изучали возбудителей клещевого возвратного тифа на субмикроскопическом уровне. Однако ряд вопросов, касающихся ультраструктуры этих микроорганизмов, остается спорным. В данной работе приводятся материалы по изучению строения возбудителя клещевого возвратного тифа *Borrelia caucasica*, выделенного из клещей *Ornithodoros verrucosus*.

Материал и методы. Исследуемый материал получали из крови инфицированных морских свинок в разгаре инфекционного процесса.

Изучение *Borrelia caucasica* проводилось на целых клетках методом ультратонких срезов. Для получения препаратов плазму крови после осаждения форменных элементов подвергали центрифугированию в течение 20 мин. при 3000 об/мин. Осадок фиксировали забуференным раствором осмия по Келленбергеру [8] в модификации Тихоненко и Беспаловой [1]. Были применены и другие методы фиксации: формалин на фосфатном буфере с добавлением сахарозы, 1% глутаральдегид на фосфатном буфере [9]. После фиксации материал обезвоживали в спиртах и заключали в смесь бутил и метилметакрилатов (4:1), с перекисью бензоила в качестве катализатора. Ультратонкие срезы получали на ультратоме LKB-Producter и дополнительно контрастировали уранилацетатом или лимоннокислым свинцом [7]. Для изучения целых клеток был применен метод негативного контрастирования 2% фосфорно-вольфрамовой кислотой (рН 6,9—7,2). Микрофотографирование объектов производили на микроскопе JEM-6С, при напряжении 80 кв и увеличении $\times 10.000$, $\times 20.000$, $\times 30.000$ и $\times 39.000$.

Результат и обсуждение. Использование указанных методов позволило нам выявить следующие детали тонкого строения *Borrelia caucasica*. Клетка боррелий состоит из трех структурных элементов: покрова, цитоплазматического цилиндра и фибрилл осевой нити.

Покров ограничен с поверхности трехслойной мембраной, состоящей из двух осмиофильных и одного промежуточного осмиофобного слоя (толщина наружного осмиофильного слоя 40 Å, осмиофобного—30 Å, внутреннего осмиофильного слоя—30 Å). Пространство между покровом и цитоплазматической мембраной заполнено осмиофобным материалом

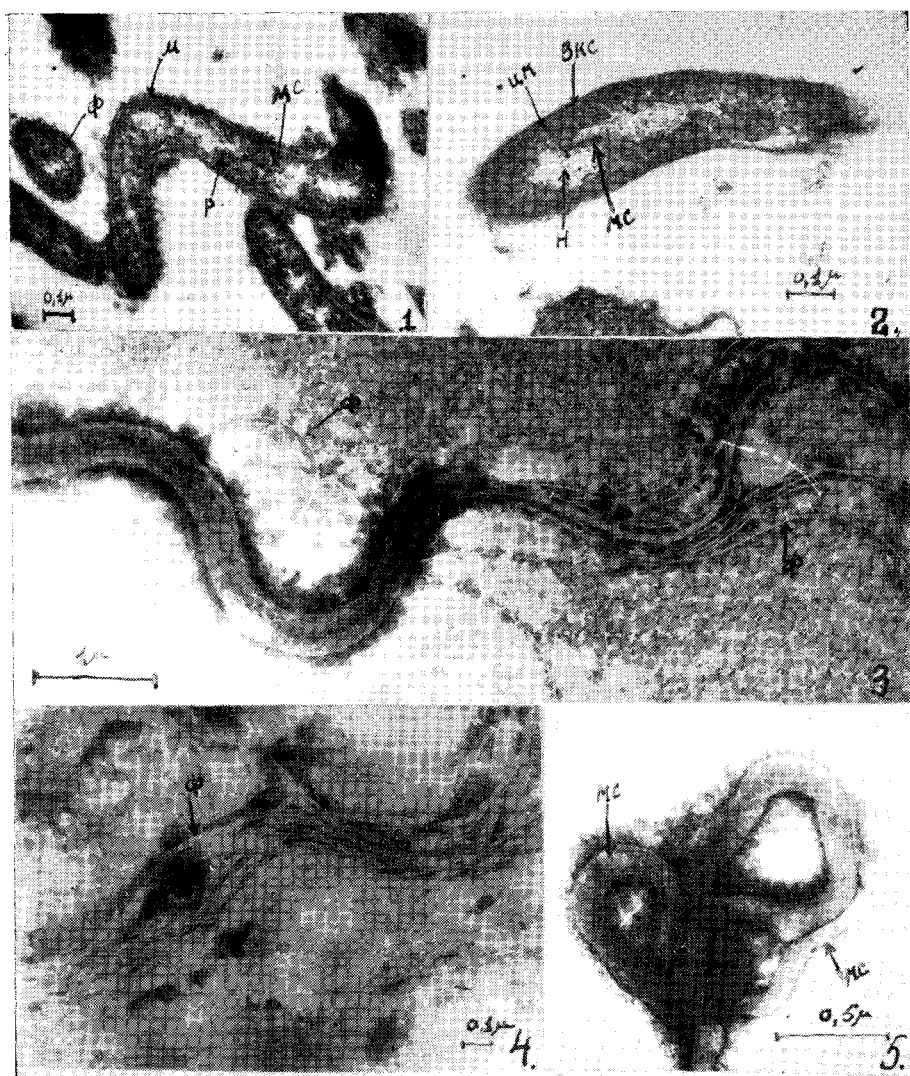


Рис. 1, 2. Ультратонкие срезы, фиксация по Келленбергеру. Срезы контрастированы уранилацетатом. 1) Ув. $\times 40.000$, 2) Ув. $\times 60.000$.

Рис. 3, 4, 5. Негативное окрашивание целых клеток боррелий фосфорно-вольфрамовой кислотой. 3) Ув. $\times 16.000$, 4) Ув. $\times 40.000$, 5) Ув. $\times 30.000$.

Условные обозначения:

м — мембрана клеточной стенки, вкс — внутренний слой клеточной стенки, цм — цитоплазматическая мембрана, мс — внутрицитоплазматические мембранные структуры, р — рибосомы, н — нуклеоид, ф — фибриллы осевой нити.

(рис. 1, 2). В этом пространстве располагаются фибриллы осевой нити, которые обвиваются вокруг цитоплазматического цилиндра. Количество их 17 ± 37 , диаметр 80—100 Å. Полученные нами данные о расположении фибрилл осевой нити не совпадают с данными [10, 2, 4], показывающими, что фибриллы осевой нити расположены снаружи от клеточной стенки и покрыты слизеподобным слоем. При обработке клеток трипсином, покров клетки частично разрушается и фибриллы осевой нити высвобождаются (рис. 3, 4).

Цитоплазматическая мембрана имеет также трехслойное строение (размеры наружного осмиофильного слоя—30 Å, осмиофобного—25 Å и внутреннего осмиофильного—30 Å).

Цитоплазма имеет гранулярное строение, размер гранул достигает 150—200 Å, т. е. соответствует размеру рибосом. Цитоплазма содержит менее плотные области в центральной зоне вдоль продольной оси клетки, которая занята нежной сеткой из беспорядочно расположенных осмиофильных нитей. Эти зоны соответствуют нуклеоиду клетки (рис. 2).

Как на негативно окрашенных препаратах, так и на ультратонких срезах обнаруживаются внутрицитоплазматические мембранные образования (рис. 1, 2, 5). Они располагаются в периферической части цитоплазмы и ориентированы параллельно цитоплазматической мембране или в зоне нуклеоида. Эти мембраны имеют трехслойное строение (два осмиофильных слоя по 25 Å и один осмиофобный слой—25 Å), как и цитоплазматическая мембрана.

При изучении целых клеток методом негативного контрастирования мы наблюдали поперечное деление клеток. Занимая промежуточное положение между бактериями и простейшими, боррелии по своей субмикроскопической организации имеют большее сходство с бактериями, чем с простейшими.

Ереванский государственный университет
и Институт эпидемиологии и микробиологии
им. Н. Ф. Гамалеи, г. Москва

Поступило 9.VII 1966 г.

Կ. Օ. ՀՈՎՆԱՆՅԱՆ

ՏԶԱՅԻՆ ՀԵՏԱԴԱՐՁ ՏԻՖԻ ՀԱՐՈՒՑԻՉԻ BORRELIA
CAUCASICA-ի ՍՈՒԲՄԻԿՐՈՍԿՈՊԻԿ ԿԱՌՈՒՅՎԱԾՔԸ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Ուլտրանոթր կտրվածքների և նեգատիվ ներկման մեթոդները մեզ հնարավորություն տվեցին ուսումնասիրելու *Borrelia caucasica*-ի կառուցվածքը սուբմիկրոսկոպիկ մակարդակի վրա:

Բորրելիան կազմված է բջջային թաղանթից, ցիտոպլազմատիկ գլանից, ներցիտոպլազմատիկ մեմբրանային ստրուկտուրաներից և առանցքային ֆիբրիլներից: Բջջային ծածկույթի արտաքին մեմբրանան երեքշերտանի է և կազմը-
Биологический журнал Армении, XX, № 2—7

ված է արտաքին օսմիոֆիլ միջին օսմիոֆոր և ներքին օսմիոֆիլ շերտերից: Ըստ հերթականության այդ շերտերի հաստությունն է $40\text{\AA}$, $30\text{\AA}$ և $30\text{\AA}$: Բջջային մեմբրանայից հետո գալիս է մի օսմիոֆոր տարածություն, որտեղ գտնվում են առանցքային ֆիբրիլները, նրանց քանակությունը 17 ± 37 է: Յիտոպլազմատիկ մեմբրանան նույնպես երեքշերտանի է՝ օսմիոֆիլ շերտ $30\text{\AA}$, օսմիոֆոր $25\text{\AA}$ և օսմիոֆիլ շերտը $30\text{\AA}$:

Բորբեկայի ցիտոպլազման կազմված է գրանուլավոր ստրուկտուրաներից՝ $150\text{--}200\text{\AA}$ տրամագծով: Ըստ չափսերի նրանք համապատասխանում են սփրոսոմներին:

Յիտոպլազմայի կենտրոնական հատվածում գտնվում են օսմիոֆոր զոնաներ, որոնք ծածկված են նուրբ ցանցով անկարգ ձևով գնացող օսմիոֆիլ թելերից: Այդ զոնաները համապատասխանում են նուկլեոիդին: Ինչպես ուլտրանուրբ կտրվածքների, այնպես նեգատիվ ներկված բջիջների ցիտոպլազմայում գտնվում են մեմբրանային ստրուկտուրաներ, որոնք, ինչպես ցիտոպլազմատիկ մեմբրանան, երեքշերտանի են (օսմիոֆիլ, օսմիոֆոր և օսմիոֆիլ շերտերի հաստությունը $25\text{\AA}$ է): Նեգատիվ ներկված պրեպարատներում երևում է բորբեկայի միջածիզ բաժանումը:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Тихоненко А. С., Беспалова И. А. Журн. Микробиология, т. XXIII, 2, стр. 353, 1964.
2. Щеулов А. П. Изв. АН Уэ. ССР, 5, стр. 80—85, 1959.
3. Bradfield Y. R. G. and Cater D. B. Nature, 169, 944, 1952.
4. Kawata T. The Japanese Journal of Microbiology, 5, 2, 203—210, 1961.
5. Lofgren R. and Maelolm n. Soule. J. of Bacteriology, 50, 6, 1945.
6. Mölbert E. Zeitschr. Hyg., 142, 203, 1956.
7. Reynold E. S. J. Cell. Biology. 17, 1, 208—211, 1963.
8. Ryter A. and Kelleuberger E. Zeitschr. Naturforsch., 13, v. 597, 1958.
9. Sabatini D. D., Bensch K., Barrnett R. J. J. Cell. Biology, 17, 1, 19—56, 1963.
10. Swait R. H. A. J. Pathol. Bacteriol., 69, 19, 117, 1955.