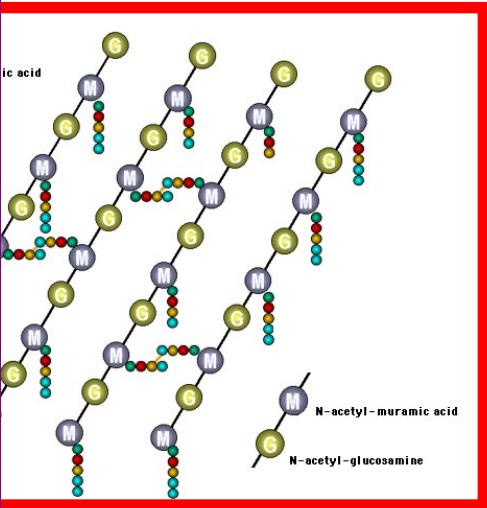
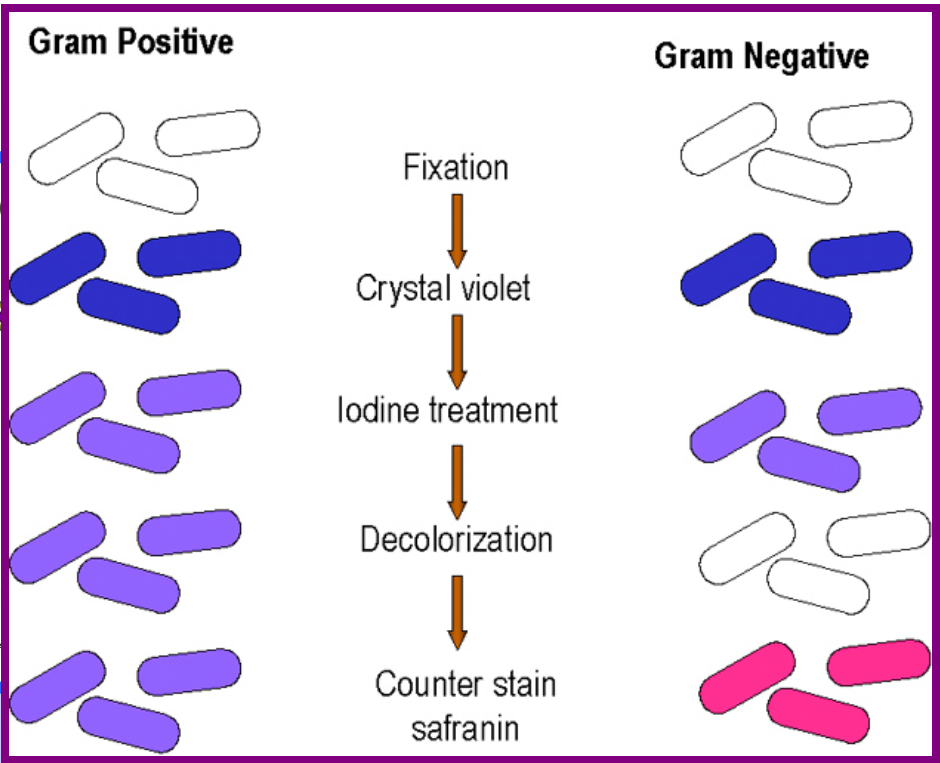
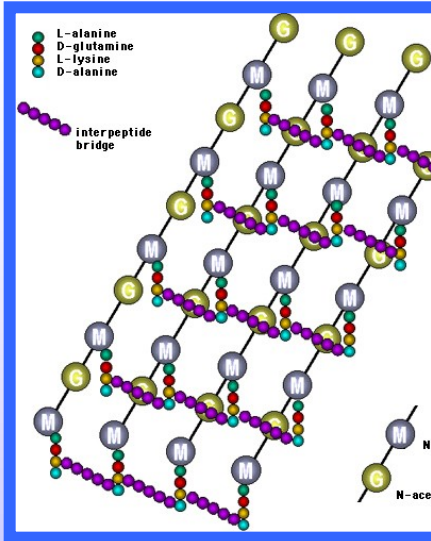
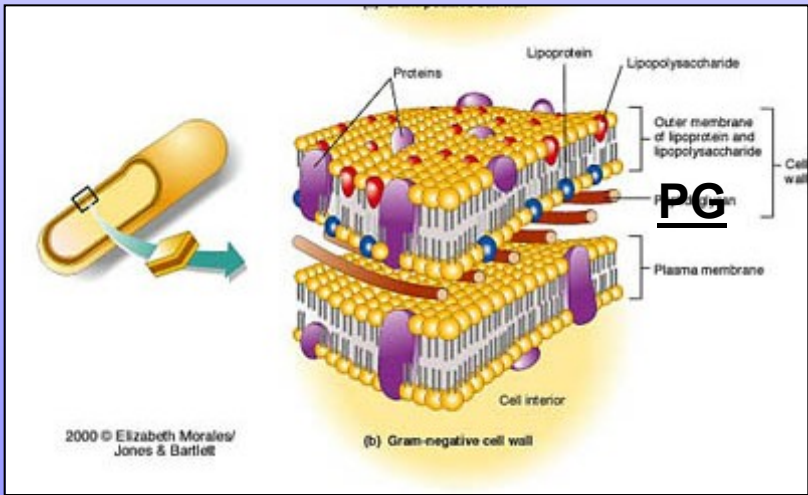
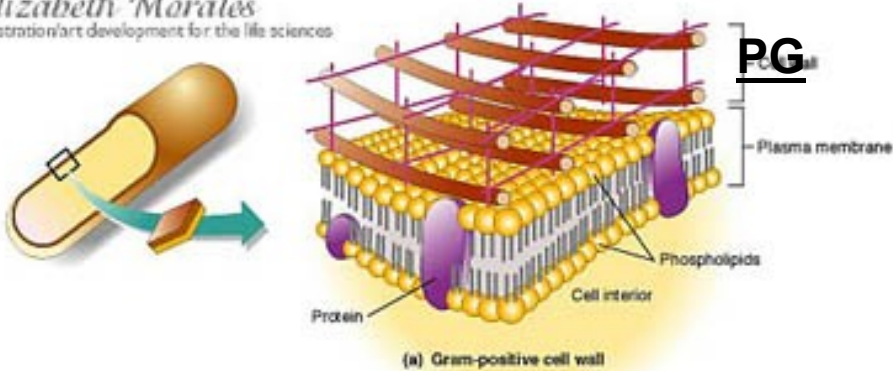


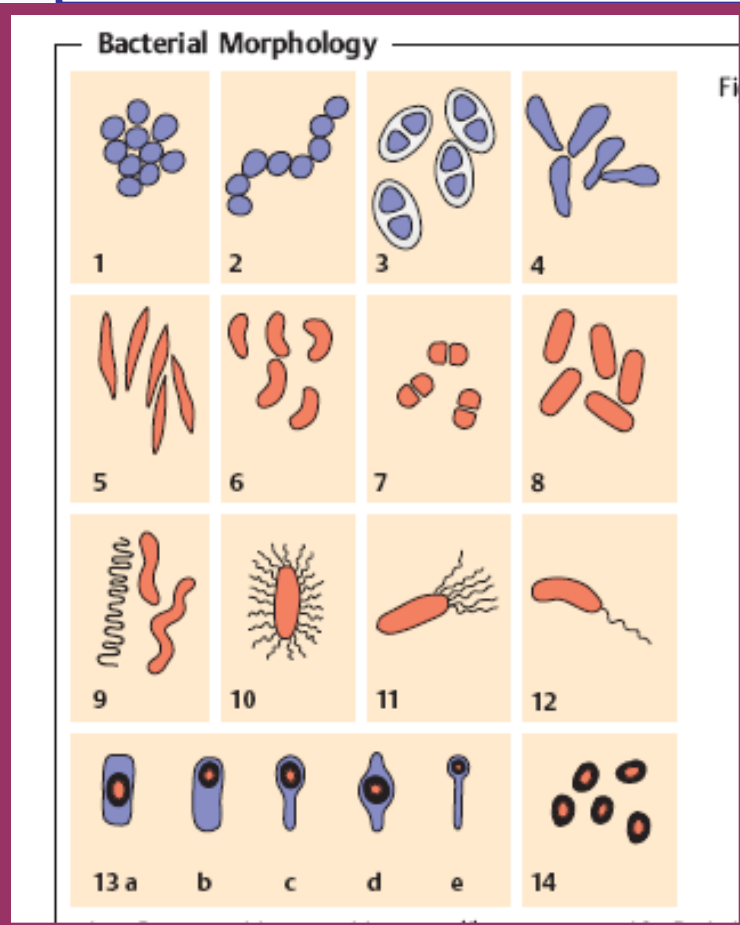
Tvary bakteriálních buněk
Morfologie kolonií
Barvení buněk
Interpretace Gramova barvení



Elizabeth Morales
 illustration/art development for the life sciences



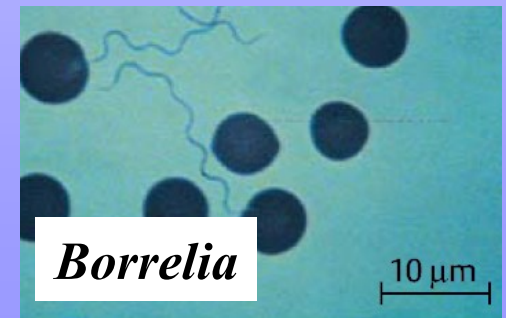
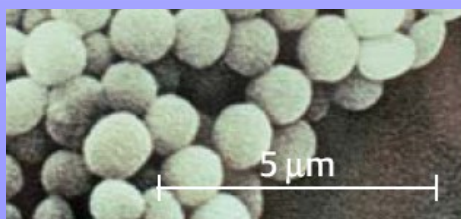
Tvary bakteriálních buněk optimální hydrodynamické vlastnosti využití přístupných živin



poměr povrch/ objem

- ♦ nejmenší - kulaté buňky
- ♦ dlouhé tenké buňky nejvyšší

- *Chlamydia* 0,3 x 0,3 μm
- *Bdellovibrio* 0,8 x 0,3
- *Rickettsia* 1 x 0,3
- *S. aureus* 0,8-1 x 0,8-1
- *E. coli* 2-3 x 0,4-0,6
- *B. subtilis* 1,8-4,8 x 0,9-1,1
- *Streptomyces* vlákno x 0,7-1,6
- *Chromatium* 25 x 10
- Spirochety 500



Velikost bakterií a) nejmenší

Nejmenší rody: *rickettsie* a *mykoplasmata*, *Nanobacterium*

• *Mycoplasma*:

Schopny samostatného růstu!

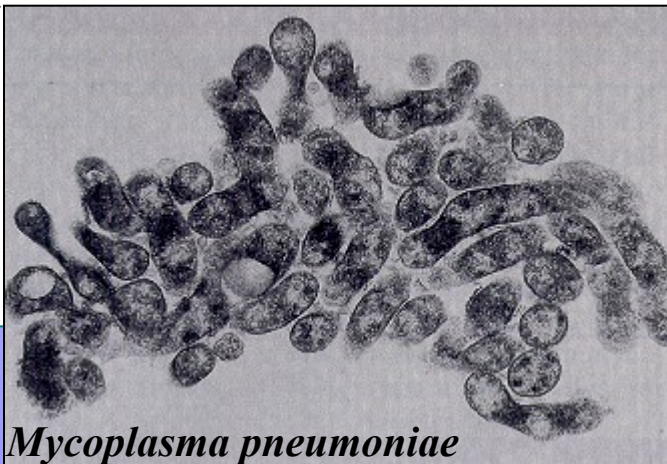
= nejmenší volně žijící bakterie

Nebezpečí: prochází
protibakteriálními
filtry!

0,2-0,8 μm

- bez buněčné stěny

(= amorfní a nebarvitelné na



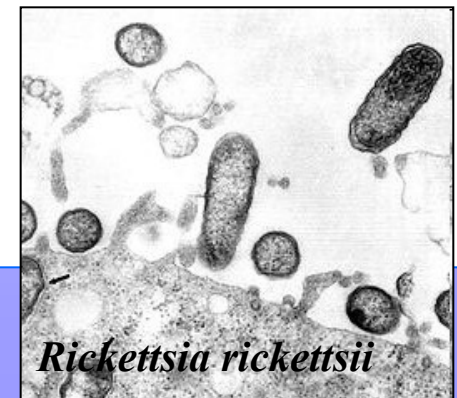
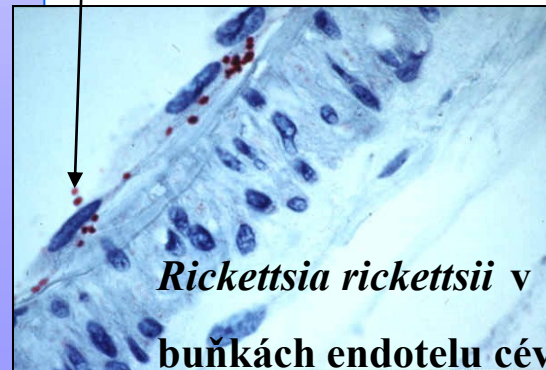
• *Rickettsie*

Nerostou mimo hostitelskou buňku!

0,3-0,8 μm G- koky až tyčinky

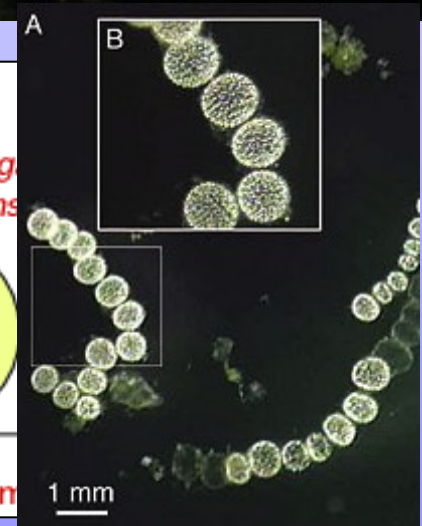
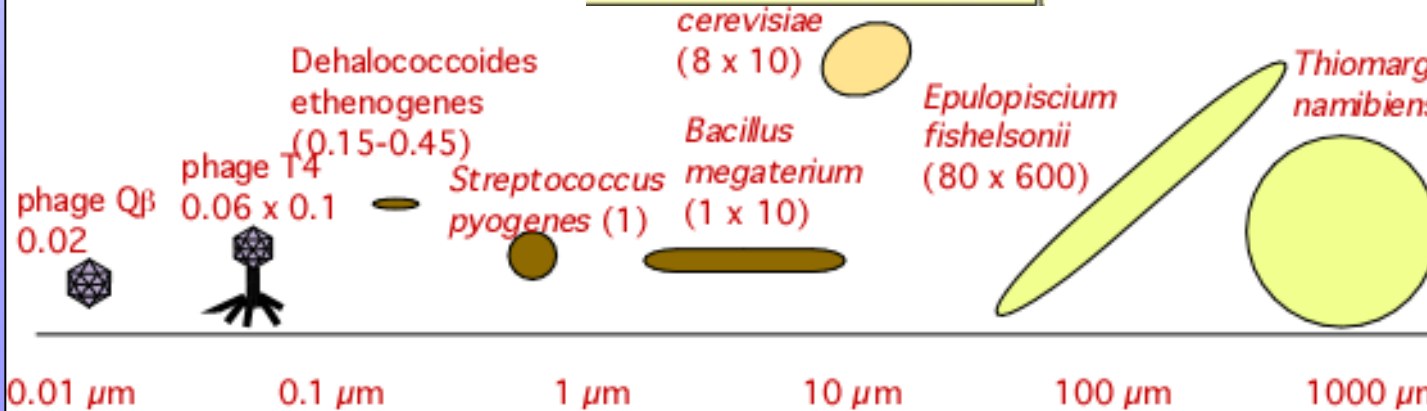
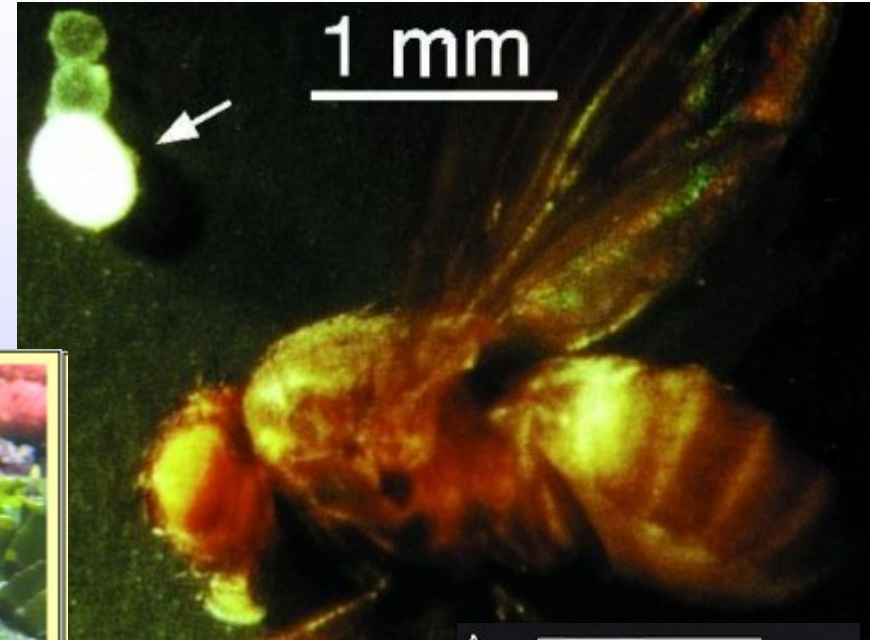
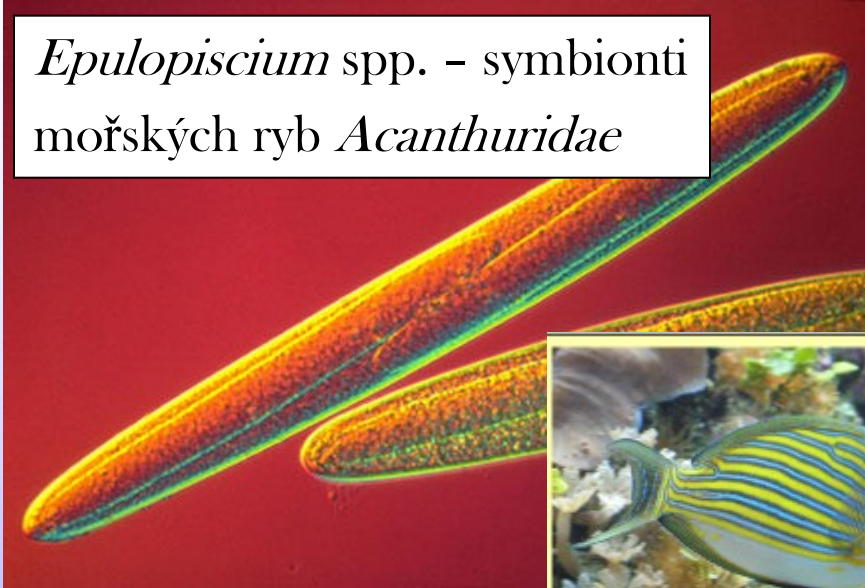
Barví se červeně dle Giemsky,
podlouhlé b. polárně.

- b.s. podobná bakteriální



Velikost bakterií b) největší

Epulopiscium spp. – symbionti mořských ryb *Acanthuridae*



Bakterie monomorfní

existence jedné morfologické formy nezávisle na podmínkách růstu

Bakterie pleomorfní (mnohotvaré, pleiomorfní)

existence odlišných morfologických forem u téhož druhu či kmene (vlivem různých podmínek pro růst, často starší kultury)

příklady: *Corynebacterium diphtheriae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Rickettsia prowazeki*, *Rickettsia rickettsia*

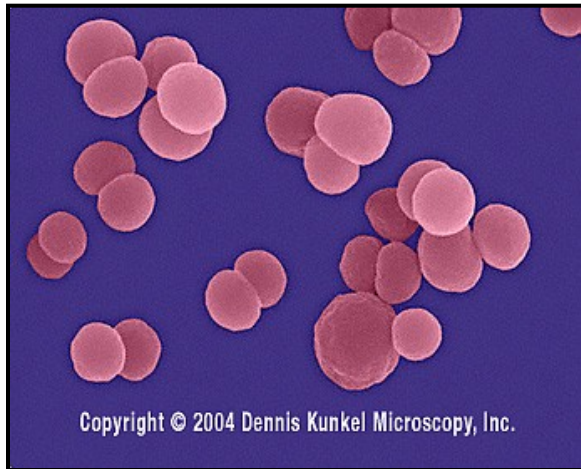
1. mykobakterie
2. corynebacterium -plectridium (ztluštění terminálně) či clostridium (ztluštění centrálně), corynebacterium mikroskopie: jednotlivě, dvojice nebo shluk.
3. aktinomycety - mikroskopie: jednotlivě, dvojice nebo shluky. U streptomycet např. čím delší kultivace tím větší pleomorfismus.

Koky

Geneticky kódováno dělení v rovinách a odloučení samostatné buňky.

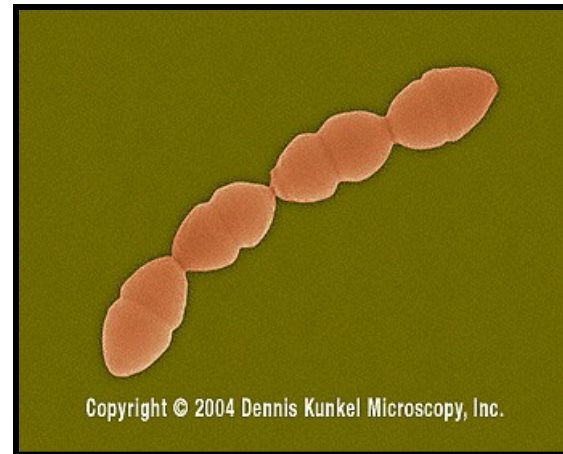
Spojení buněčnou stěnou –Van Der Waalsovy síly

• oploštělé



Neisseria meningitidis - Gram-negative
meningitis, Waterhouse-Friderichson syndrome

zašpičatělé

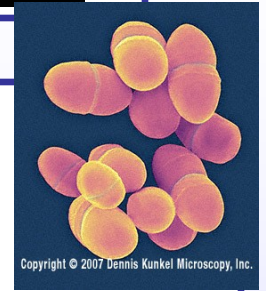


Streptococcus pneumoniae - Gram-positive
Encapsulated.
Causes (lower respiratory infection) pneumonia
(upper respiratory infections) bronchitis,
laryngitis, sinusitis, and otitis media.

v závislosti na rovině dělení :

- **diplokoky** - jedno dělení v jedné rovině
i shluky (dle náboje buňky a živin), G+ i G-

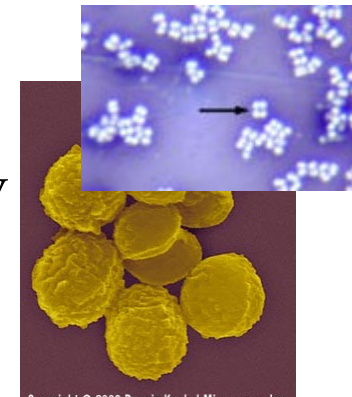
Neisseria gonorrhoeae, Gram-negative



Copyright © 2007 Dennis Kunkel Microscopy, Inc.

- **streptokoky** - dělení v jedné rovině (každá b.)
Jednotlivě, dvojice nebo řetízky
(*Streptococcus*, *Lactococcus*)

- **tetrády** dělení ve dvou rovinách,
málo časté, většinou přerůstají v balíčky
(*Micrococcus luteus*)



Micrococcus luteus

- **pakety, sarciny**
dělení ve 3 na sebe kolmých rovinách
po dělení zůstávají ve skupinách po 8

- **stafylokoky**

nepravidelné dělení

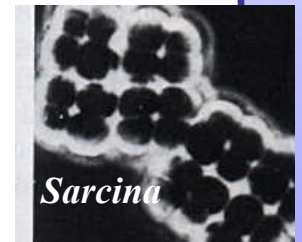
shluky, hrozníčky

Shluk **druhově charakteristický**

v prostředí bohatém živinami - více shluků



Streptococcus



Sarcina



Staphylococcus aureus

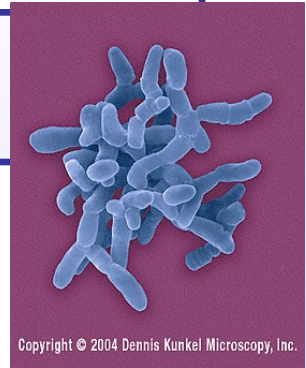
Charakter shluků závisí na způsobu dělení bakteriálních buněk

- příčiny tvorby jednotlivých typů shluků u jednotlivých skupin bakterií nejsou jasné
- myxobakterie – produkce extracelulárních enzymů a lyze nerozpustných makromolekul
- studium vztahů mezi strukturou a funkcí
- jiná distribuce živin dovnitř shluku buněk



Salmonella typhi

Tyčinky, tyčky



Copyright © 2004 Dennis Kunkel Microscopy, Inc.

Mycobacterium paratuberculosis

rovné (většina bakterií, *E. Coli*, r. *Salmonella*...)

krátké (kokobacily)

dlouhé - vlákna (*Erysipelothrix*, *Actinomyces*)

štíhlé (*Mycobacterium tuberculosis*, *Clostridium tetani*)

robustní (r. *Lactobacillus*, *Clostridium perfringens*)

rozštěpené (r. *Bifidobacterium*)

větvící se (rr. *Nocardia*, *Actinomyces*)

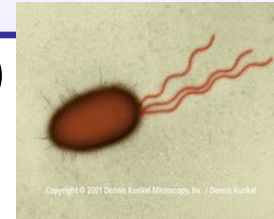
zakřivené (vibria-*Vibrio*, *Campylobacter*) *Vibria* – různě prohnuté na jednu stranu, divoké kmeny více než sbírkové. Mikroskopie: vždy jednotlivě, dvojice jen na konci buněčného cyklu.

s rovnými až konkávními konci (*Bacillus anthracis*)

vřetenovité (r. *Fusobacterium*)

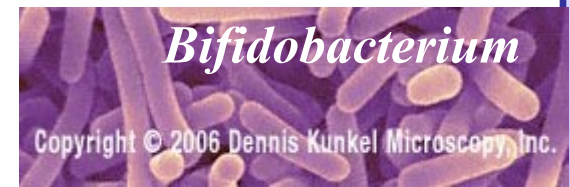
kyjovité (r. *Corynebacterium*)

pleomorfní



Copyright © 2001 Dennis Kunkel Microscopy, Inc. / Dennis Kunkel

E. coli



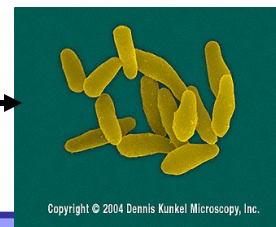
Bifidobacterium

Copyright © 2006 Dennis Kunkel Microscopy, Inc.



Vibrio

Copyright © 2004 Dennis Kunkel Microscopy, Inc.



Copyright © 2004 Dennis Kunkel Microscopy, Inc.

Actinomyces virosus

Copyright © 2006 Dennis Kunkel Microscopy, Inc.

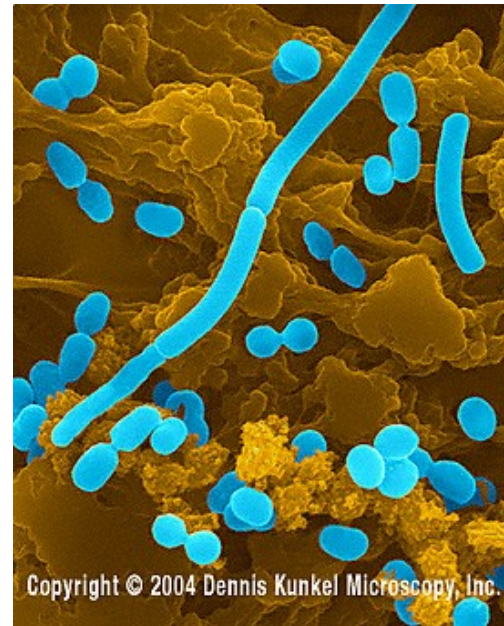
Kokobacily

kokobacily a kokotyčky dvojice nebo shluky, nikdy řetízky

- *Bordetella pertusis*, *Kingella*, *Acinetobacter*



Bordetella holmesii



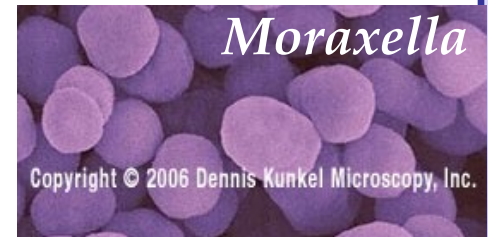
Acinetobacter spp.

Tyčinky

Dělí se typicky jen podél své krátké osy a zůstávají většinou odděleně;

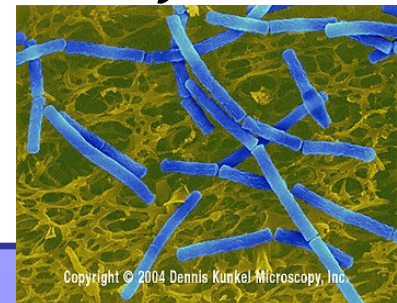
- Diplobacily:

tyčky ve dvojicích s kratšími konci u sebe (např. rod *Moraxella*)



- Streptobacily:

Tyčky, které zůstávají v řetízku po dělení (např. *Streptobacillus moniliformis*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Bacillus*, *Lactobacillus*,)



Další tvary tyčinek

Mycelium tvořící - aktinomycety, streptomycety

Prostéky tvořící

prostéka - buněčný výběžek

Cytoplazma + CM + BS

(*Filomicrobium*, *Hyphomicrobium*)

Pupeny, pučení

Pupeny na krátké straně.

Pučí většinou tyčky. Puppen vždy opouští mateřskou buňku.

(*Ancalomicrobium*, *Blastobacter*,
Hyphomonas)

Spirálovité

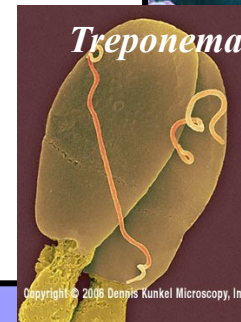
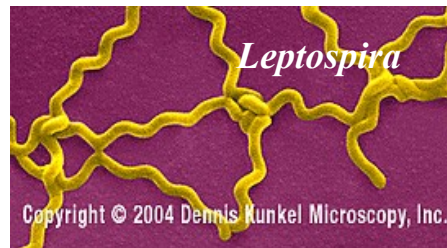
nepřavidelné (rody *Spirillum*, *Helicobacter*)

hrubé (r. *Borrelia*)

jemné (r. *Treponema*)

jemné se zahnutými

konci (r. *Leptospira*)





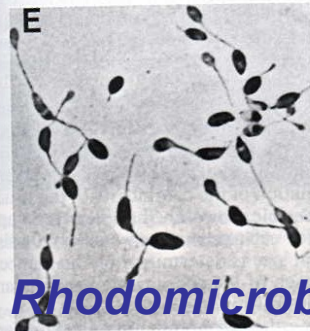
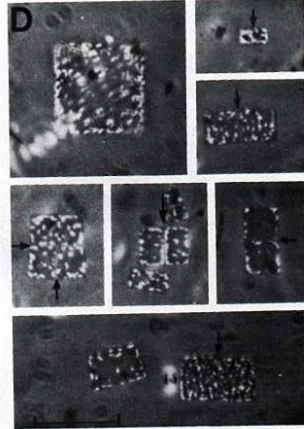
Prosthecomicrobium



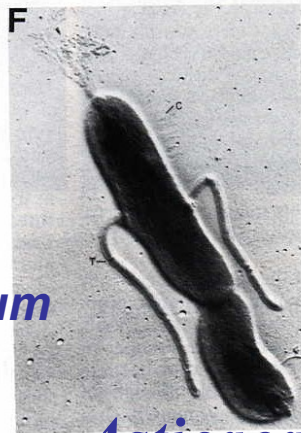
Simonsiella



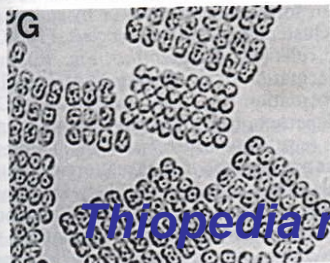
Cylindrospermum



Rhodomicrobium



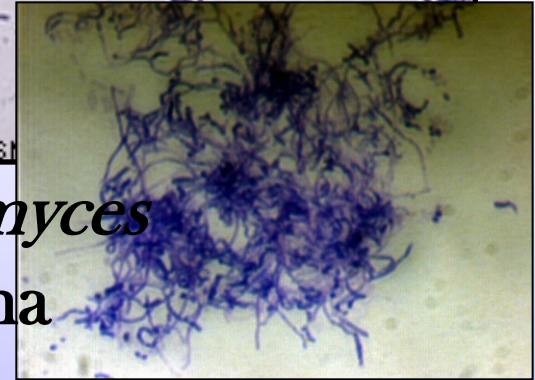
Asticacaulis



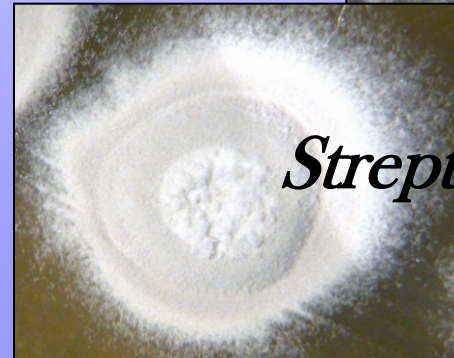
Thiropedia rosea



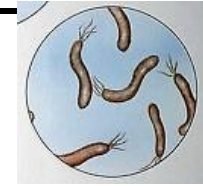
Streptomyces
G⁺ vlákna



Streptomyces



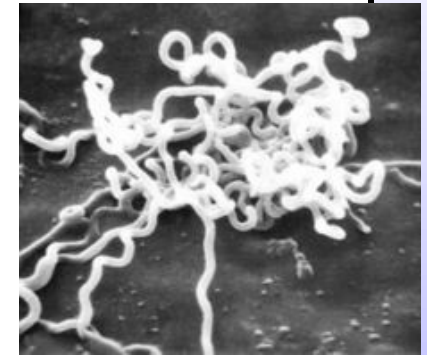
Spirilly – určitý a konstantní počet závitů
(– max 5-7.) a vždy stejné stoupání



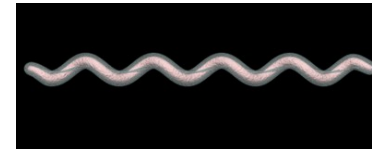
Pohyb a udržování počtu závitů vždy dle osového vlákna, závity jen v 1 rovině, relativně tenké buňky.

Spirochety – více závitů ve 2 či 3 rovinách,
tlustší buňky.

Bičíky v horním periplazmatickém prostoru, axiální bičíky vidíme až na řezu (jeden až několik desítek).



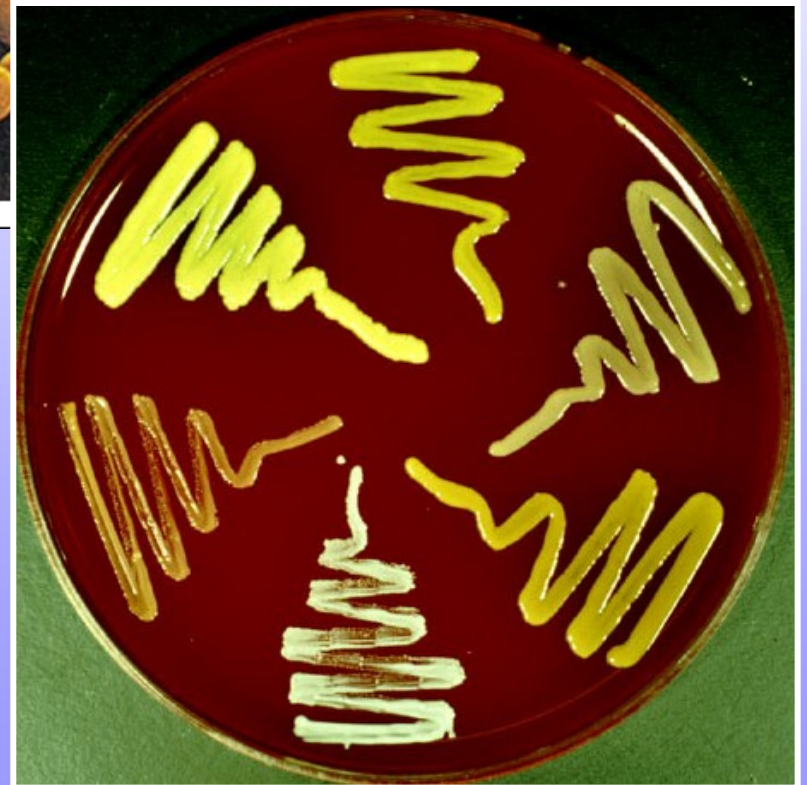
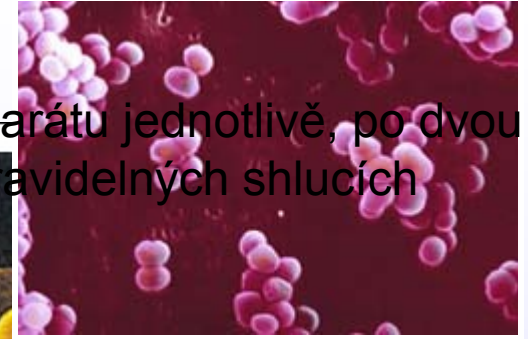
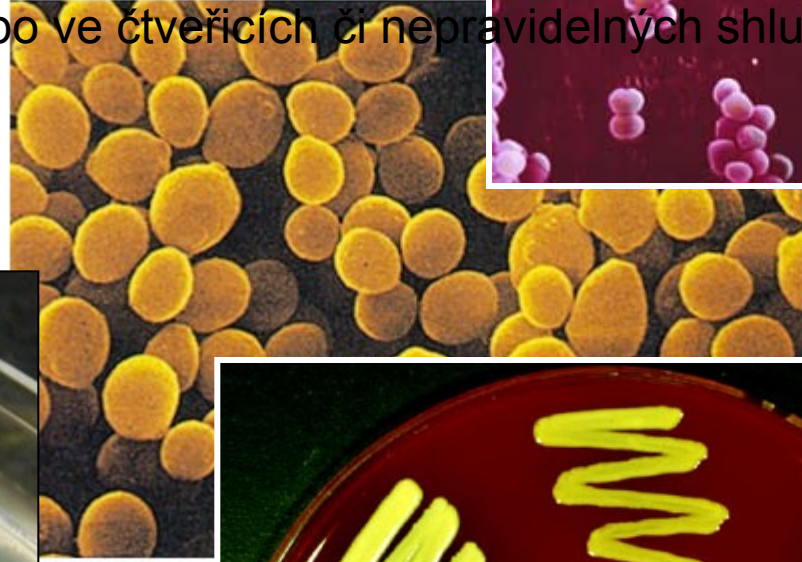
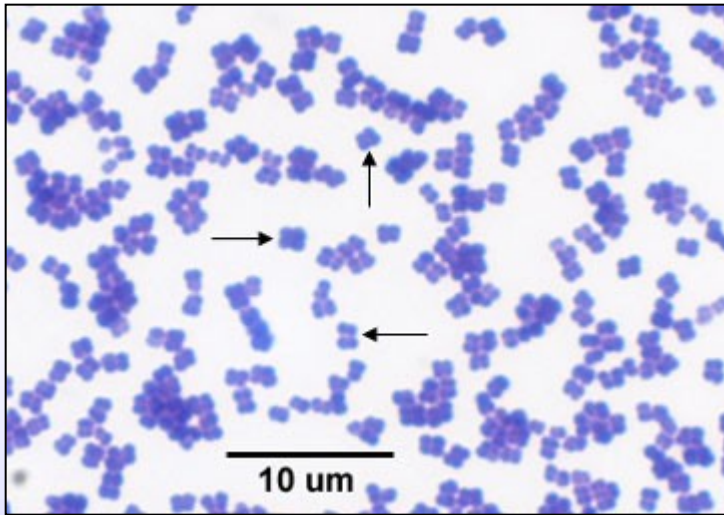
Undulující membrána – bílkovina + sacharid v 1 rovině, výlučně u vodních.

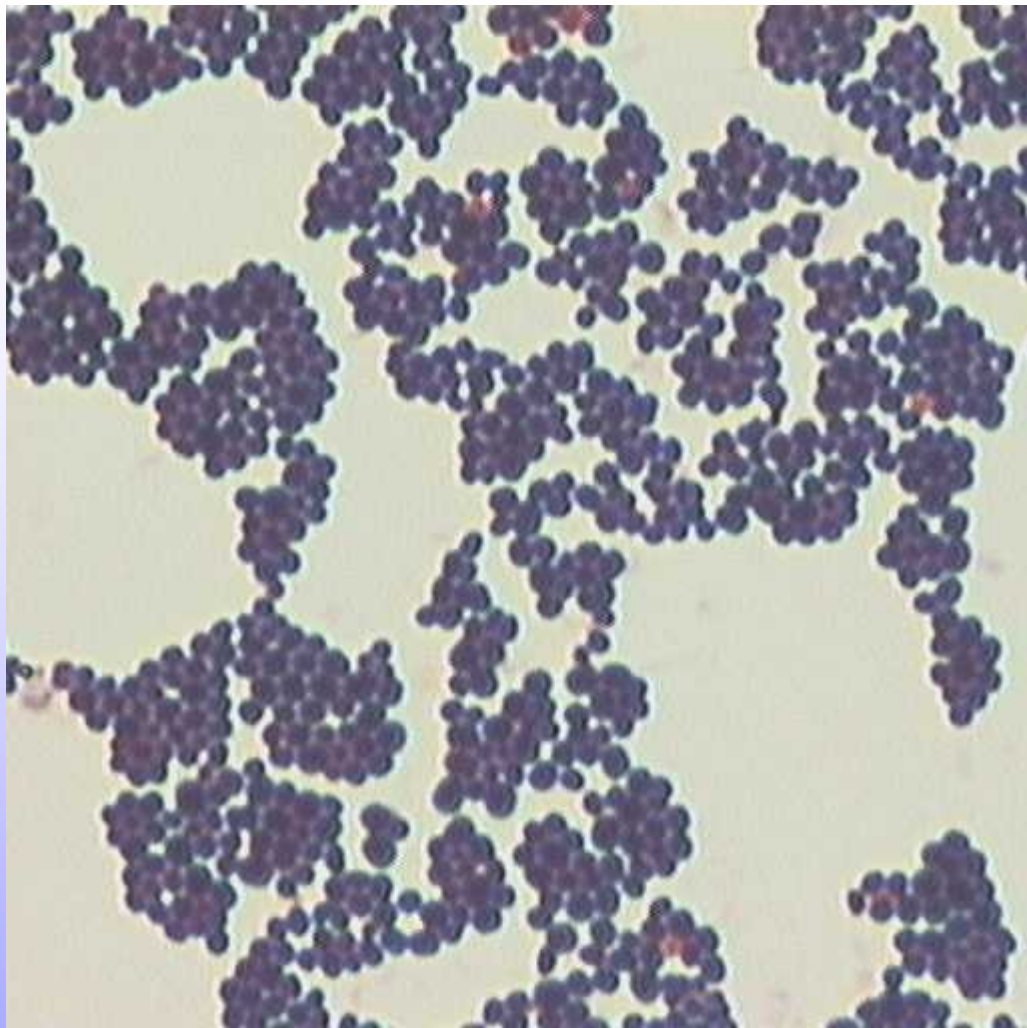


U spiril i spirochet bičíky vždy na koncích, jednotlivě či ve svazku. Pokud spojení buněk, tak háčkem, ne plochou. Pro pozorování se využívá mikroskopie v zástinu. Mikroskopie: buňky vždy jednotlivě.

Micrococcus

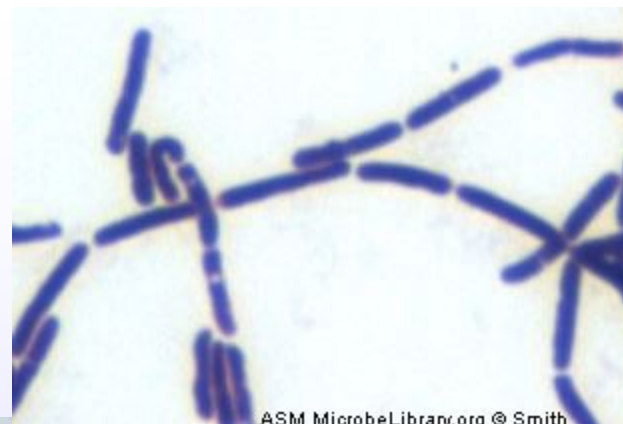
G⁺ sférické buňky, v preparátu jednotlivě, po dvou nebo ve čtveřicích či nepravidelných shlucích





Kocuria

G+ koky, po dvou, 4 nebo shluky



ASM MicrobeLibrary.org © Smith



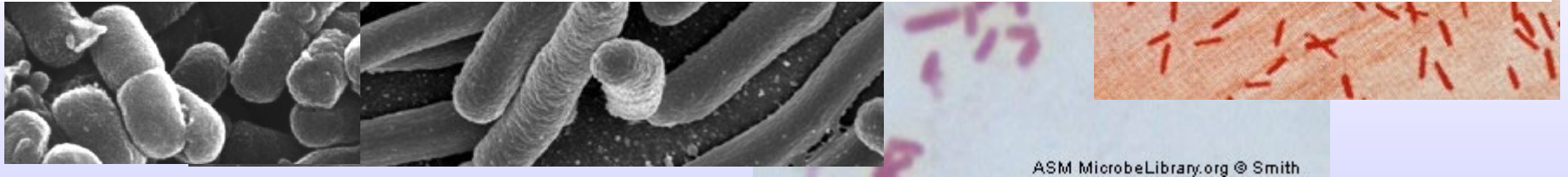
ASM MicrobeLib

Bacillus cereus

Rovné G+ tyčky různé délky, ve dvojicích i řetězcích či jednotlivě

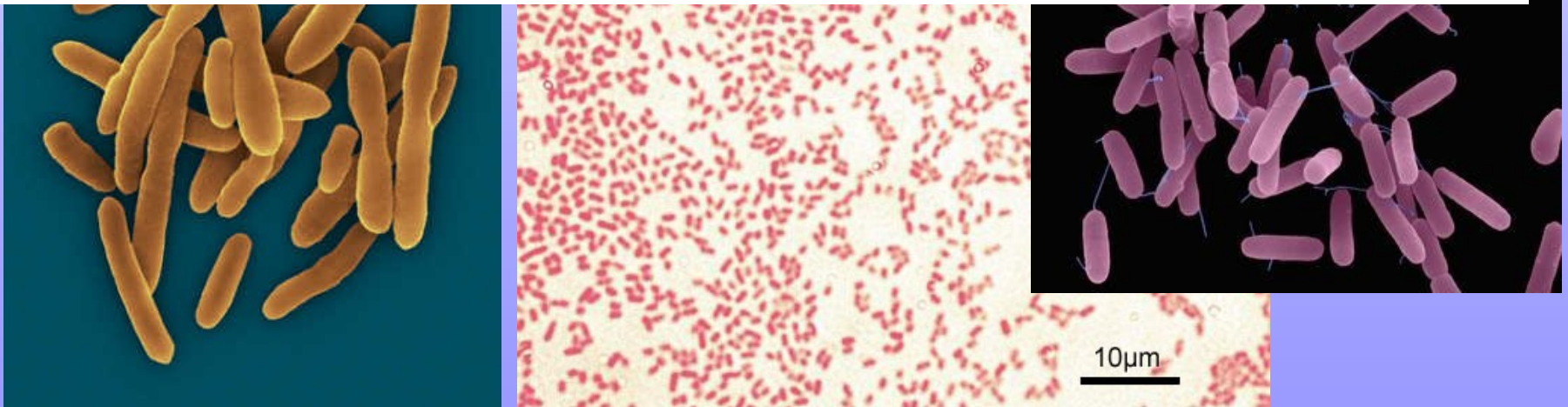


Gramnegativní rovné tyčky Jednotlivé nebo ve dvojicích

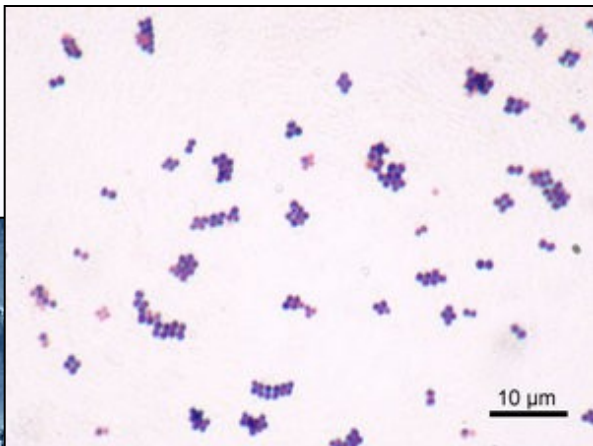


Pseudomonas

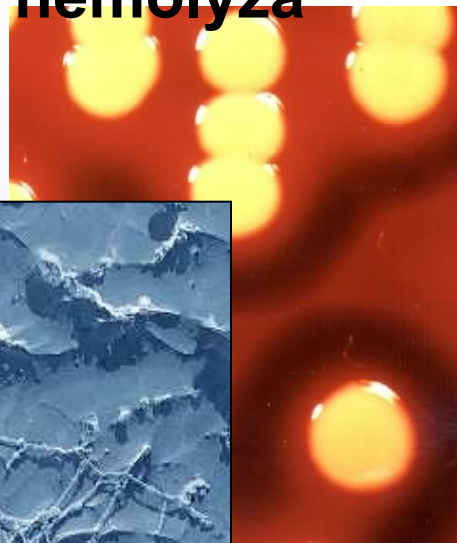
Gramnegativní rovné nebo mírně zakřivené tyčky



hemolýza



Z 10 000x



Krevní agar s 10% NaCl

Bílé nazlátlé velké kolonie



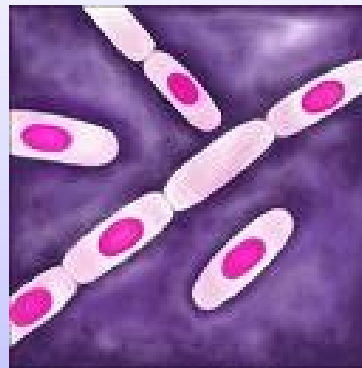
**Mikroskop:
typické
hrozníčky, shluky**



Bakterie rodu Staphylococcus

Rod *Bacillus* - různá morfologie různých druhů

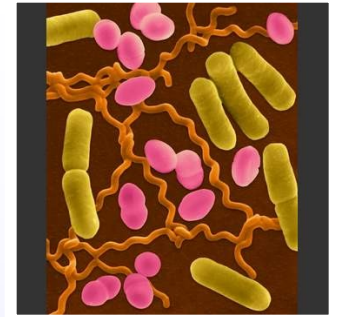
Bacillus cereus



Centrální oválná spora



Mikroskopie ve vzorku



- mikroskopický preparát sputa, Gramovo b.
- Grampozitivní koky, ve shlucích.

Leukocyty (hl. polymorfonukleáry), svědčí pro bakteriální zánět



- Výjimky při pozorování morfologie buňky barvené Gramovým barvením
 - !!Bakterie bez buněčné stěny (nebarvitelné Gramem)
 - !!Bakterie gramlabilní
 - !!Pozor na acidorezistentní buňky

Pozn: pro přesný tvar či měření buňky lépe užít negativní barvení pozadí

Bakterie bez buněčné stěny

- Sekundární ztráta b.s.
- Mutací tzv. „L-formy“ bakterií (G⁺ i G⁻)
- Primárně sférický tvar, ale i jiný
- Žijí v osmoticky stabilním prostředí (př. parazit *Mycoplasma*)
- Větš. specifická stavba membrány
- Malý genom – nepotřebují enzymy biosyntéz

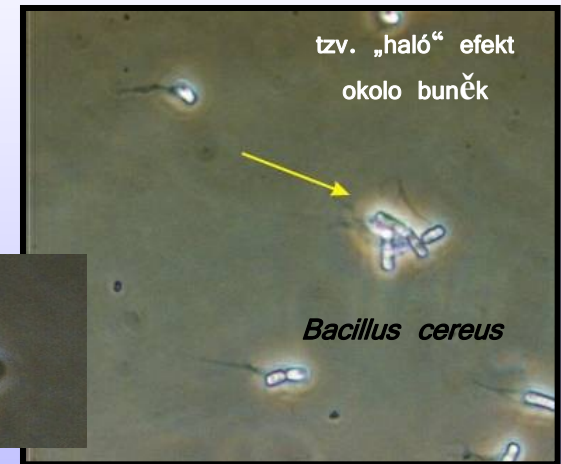
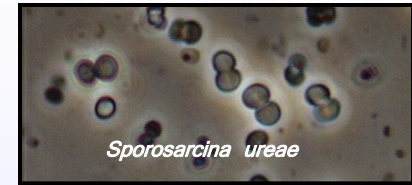
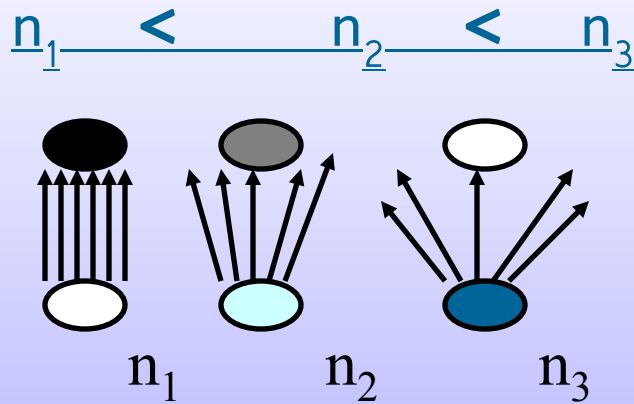
Bakterie nebarvitelné Gramem

- *Borrelia burgdorferi* (fig [1](#), [2](#))
- *Borrelia recurrentis* (fig [1](#))
- *Bartonella henselae* (fig [1](#), [2](#))
- *Chlamydia trachomatis* (fig [1](#), [images of elementary bodies](#), [images of reticulate bodies](#))
- *Chlamydophila pneumoniae* ([images of elementary bodies](#), [images of reticulate bodies](#))
- *Chlamydophila psittaci* ([images of elementary bodies](#), [images of reticulate bodies](#))
- *Coxiella burnetii* (fig [1](#), [2](#))
- *Ehrlichia chaffeensis* (fig [1](#), [2](#))
- *Anaplasma phagocytophilum* (formerly; *Ehrlichia phagocytophilum* or *E. equi*; Fig. [1](#))
- *Legionella* sp. (fig [2](#))
- *Leptospira* sp. (fig [1](#), [2](#))
- *Mycobacterium bovis* (fig [1](#))
- *Mycobacterium tuberculosis* (fig [1](#), [2](#) thanks to Anders Olav Lande, [3](#))
- *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium intracellulare* (fig [1](#) thanks to Anders Olav Lande)
- *Mycobacterium kansasii* (fig [1](#))
- *Mycobacterium leprae* (fig [1](#), [for a close up](#) thanks to Anders Olav Lande)
- *Mycobacterium marinum* (fig [1](#))
- *Rickettsia rickettsii* (Fig. [1](#): scroll down to bottom of the page. [2](#))
- *Orientia tsutsugamushi* (formerly; *Rickettsia tsutsugamushi*; Fig. [1](#))
- *Treponema pallidum* (fig [1](#), [2](#), [3](#))

Přehled diagnostiky G⁺ koků



Fázový kontrast



možnost pozorování živých objektů v nativním stavu bez barvení

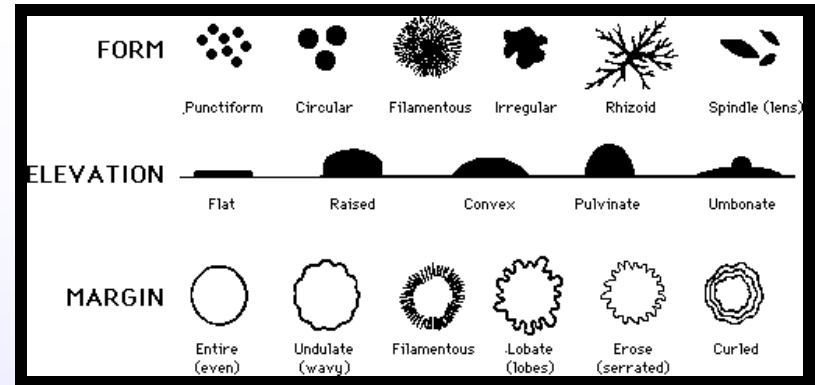
- Různé části preparátu - různý index lomu
- ohyb paprsků

Morfologie kolonií

Charakteristická pro daný bakteriální druh



- Kolonie - tvorba a stavba, uspořádání (organizace) a dorozumívání (komunikace).
- Mezikoloniální vztahy a vlivy - komunikace mezi jednotlivými koloniemi.
- Závislost na době kultivace, teplotě a výživě.
- Kolonie bakteriální = společenství buněk vzniklé obvykle na povrchu pevné kultivační půdy z třeba i jediné životaschopné buňky.



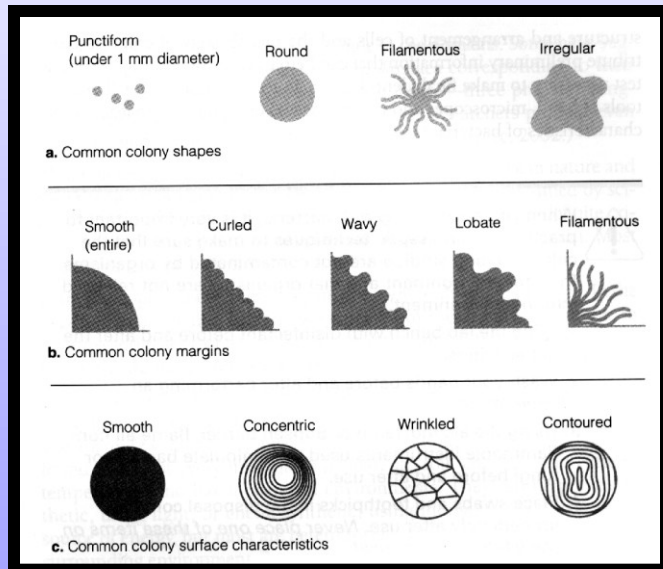
Velikost (průměr; mm)

Tvar – kolonie pravidelná kulatá, oválná, nepravidelně laločnatá, vláknitá, rhizoidní, plazící se

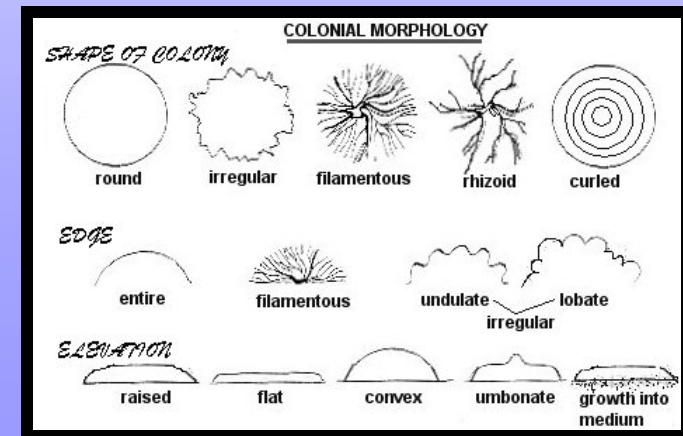
Profil – kolonie vyvýšená, plochá, pupkovitá, miskovitá ...

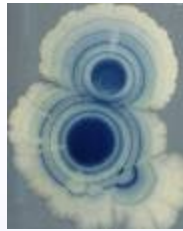
Okraje – pravidelné, filiformní, laločnaté, okrouhlé ...

Povrch – hladký, lesklý (S - fáze), matný, drsný (R- fáze)

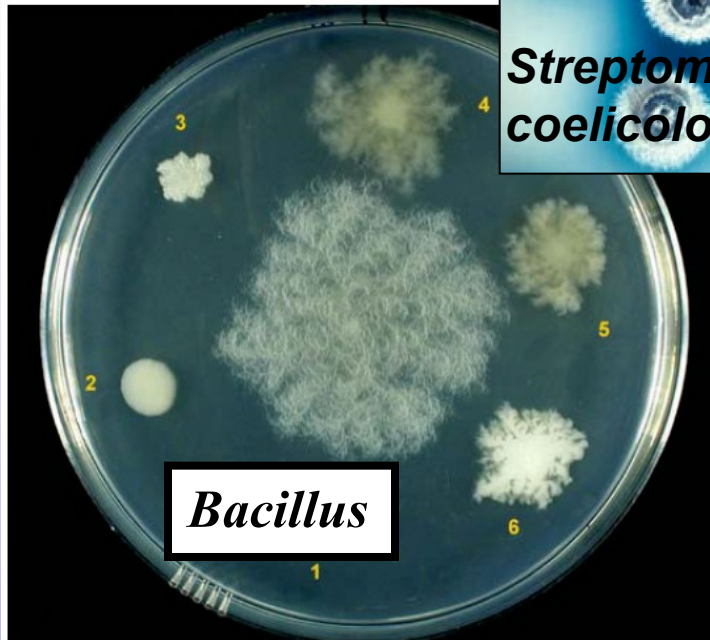
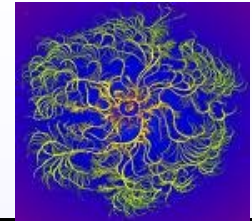
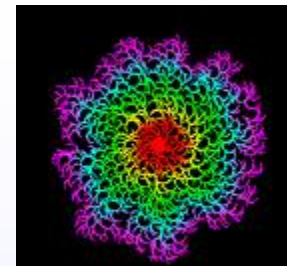


Transparence
 Vůně, zápach
 Tvorba mycelia
 Změny media
 Barva
 Konzistence



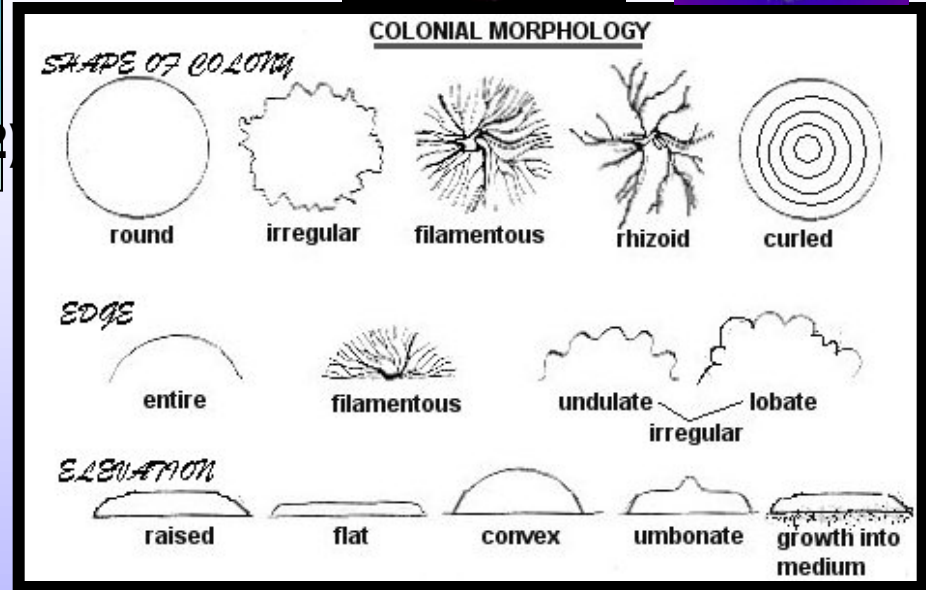


Streptomyces coelicolor A3(2)



Bacillus

Figure 4



Nocardia farcinica



Pseudomonas Mutace-PS

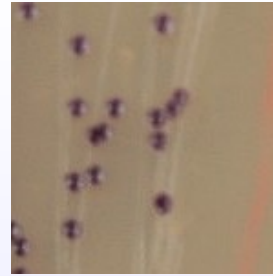
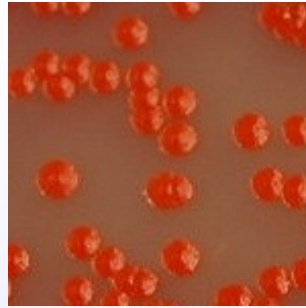


Streptomyces



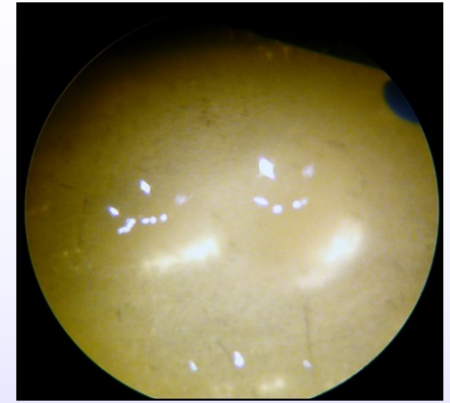


Serratia - knoflíkový profil

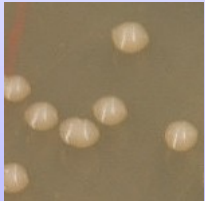


Chromobacterium violaceum

Kulaté, vypouklý profil,
pravidelné okraje



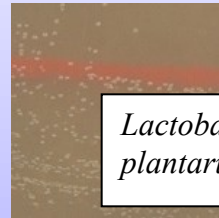
Průhledné
Azotobacter vinelandii



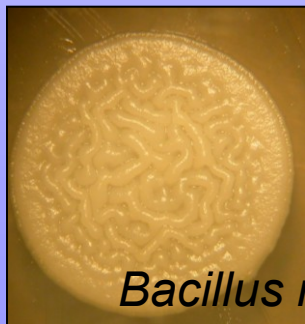
Klebsiella ozanae
Kulaté kolonie



Enterococcus faecalis
Kulaté, vypouklý profil,
pravidelné okraje
Drobné – neúčinný metabolismus
Kultivace 3-4 dny



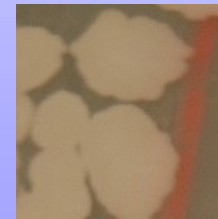
Lactobacillus plantarum



Bacillus megaterium



Salmonella
Jeden druh tvoří rozdílnou morfologii kolonií



Bacillus cereus
Kolonie velké,
nepravidelné,
plochý profil, okraj vlnitý

Definice bakteriálního druhu

- **bakteriální druh**

je souborem bakteriálních kmenů sdílející stálé shodné vlastnosti (fenotypové i genotypové – sekvence genů pro 16S rRNA, DNA-DNA hybridizace) a lišící se jimi od kmenů jiných validně popsaných druhů

- Druh se od fylogeneticky nejbližšího příbuzného (stanoveno genotypizačními metodami) musí lišit i fenotypově (fyziologické znaky – biochem. testy, chemotaxonomie)
- **Typové kultury** druhu musí být **kultivovatelné a jsou uloženy alespoň ve 2 světových sbírkách**
- Nekultivovatelné mikroorganismy popisovány jako tzv. *candidatus*

- Approved List of Bacterial Names (IJCB)
- Bacterial Nomenclature Up-to-Date:
<http://www.dsmz.de/bactnom/bactname.htm>

Zajímavé zdroje a odkazy

- <http://www.microbelibrary.org/asmonly/details.asp?id=2566&Lang=English>
- <http://www.whoi.edu/oceanus/viewArticle.do?id=2539>
- <http://www.geocities.com/CapeCanaveral/3504/gallery.htm>