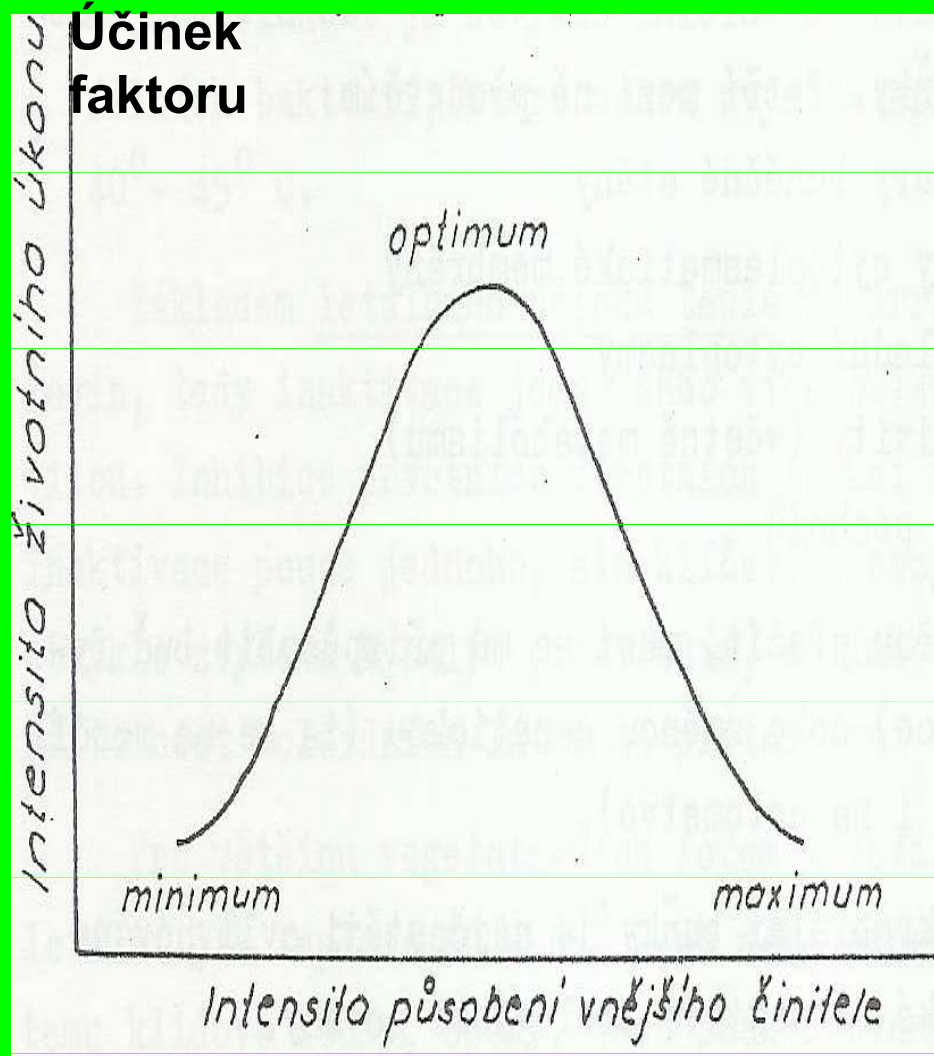


# Mikroorganizmy a vnější prostředí

# Mikroorganizmy a vnější prostředí

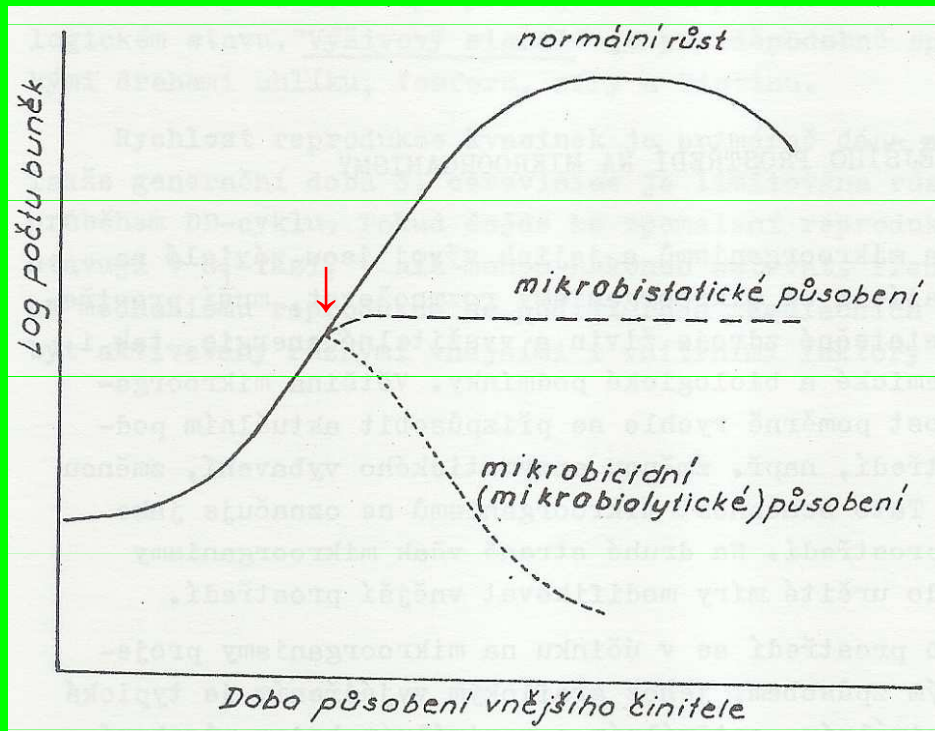
- Životní aktivita mikroorganismů a jejich vývoj jsou závislé na životních podmínkách – vnějším prostředí
- Vnější prostředí musí obsahovat dostatečné zdroje živin, využitelné zdroje energie a vhodné fyzikální, chemické a biologické podmínky
- Většina mikroorganismů se dokáže poměrně snadno přizpůsobit daným vnějším podmínkám
- Tato schopnost se označuje jako adaptace a není geneticky determinována

# Mikroorganizmy a vnější prostředí



- **Minimum** – nejmenší koncentrace faktoru, která vyvolá u organismu odpověď
- **Optimum** – koncentrace faktoru, vyvolávající maximální odpověď
- **Maximum** – maximální koncentrace faktoru, při níž zaznameneáme ještě odpověď organismu
- Průběh křivky je shodný pro inhibiční i stimulační faktory

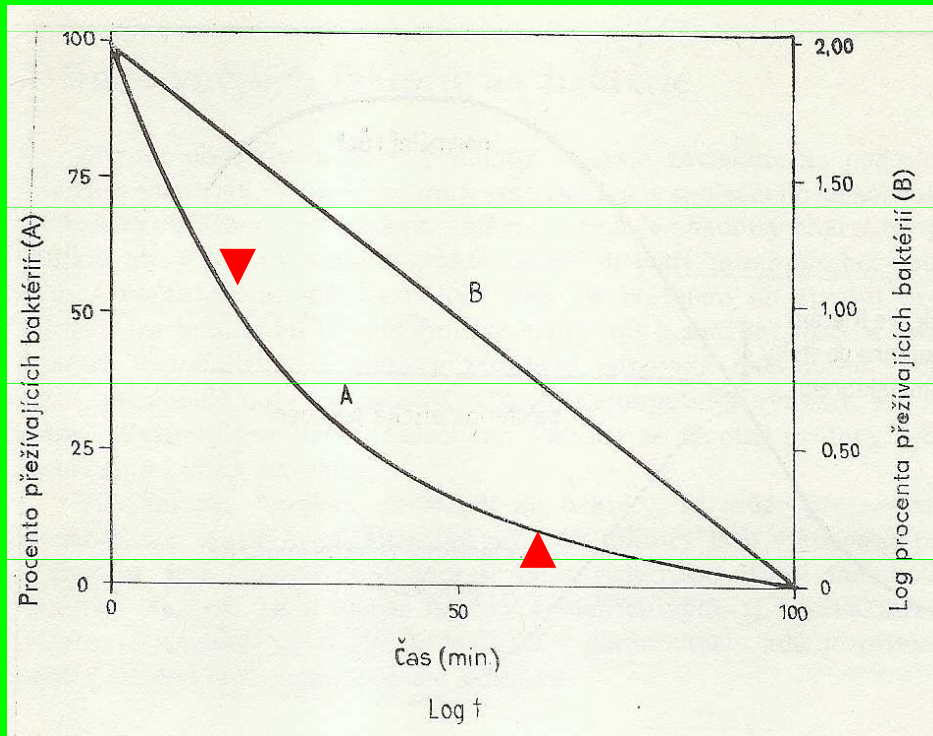
# Mikroorganizmy a vnější prostředí



- **Stimulační faktory** – vyvolají zvýšenou aktivitu organismu
- **Inhibiční faktory** – omezují aktivitu organismu
- **Mikrobistatické působení** – po odeznění vlivu faktoru se vrací organismus na původní aktivitu
- **Mikrobicidní působení** – vyvolávají irreverzibilní negativní změny v organismu, které mohou vyústit jeho odumřením

↓ začátek působení vnějšího faktoru

# Mikroorganizmy a vnější prostředí



- ▼ odumírání senzitivních organizmů
- ▲ odumírání rezistentních organizmů

- Odumírání buněk nenastává obvykle u celé populace najednou. Populace je heterogenní fyziologicky i geneticky
- Průběh procesu odumírání se znázorní křivkou odumírání (A) nebo logaritmickou křivkou odumírání (B)
- Průměrná odpověď populace na faktor vnějšího prostředí je dána **inaktivační konstantou**

$$k_i = \frac{2,3}{t} \cdot \log \frac{P_0}{P_t}$$

$P_0$  – počet organizmů v čase 0

$P_t$  – počet organizmů v čase t

# Podmínky ovlivňující působení vnějších faktorů

- Povaha a intenzita působení faktoru – některé faktory působí na všechny organizmy (teplo, UV, tlak, ...) jiné selektivně (jen na některé organizmy – chemické látky)
- Doba a teplota působení – limitující je doba působení - prodloužením doby se zvětšuje účinek. Efektivní dobu je možné měnit změnou teploty (obvykle při vyšší teplotě vyšší účinek)
- Povaha organismu – vegetativní buňky jsou citlivější než klidová stadia (nejcitlivější na začátku log fáze)
- Povaha prostředí – zesílení/oslabení účinku lze dosáhnout změnou fyzikálních a chemických parametrů prostředí (oslabení- větší viskozita, přítomnost organických látek,...; zesílení – změna pH, zvýšením teploty, ...)

# Mechanismus účinku vnějších faktorů

- Poškození buněčné stěny
- Narušením funkce cytoplazmatické membrány
- Změnou struktury a funkce základní cytoplazmy
- Zastavení procesů biosyntézy
- Zastavení procesů tvorby energie
- Inhibice enzymatické aktivity

# Faktory vnějšího prostředí

- Fyzikální faktory

- \*Sucho
- \*Teplo
- \*Osmotický tlak
- \*Hydrostatický tlak
- \*Ultrazvuk
- \*Záření

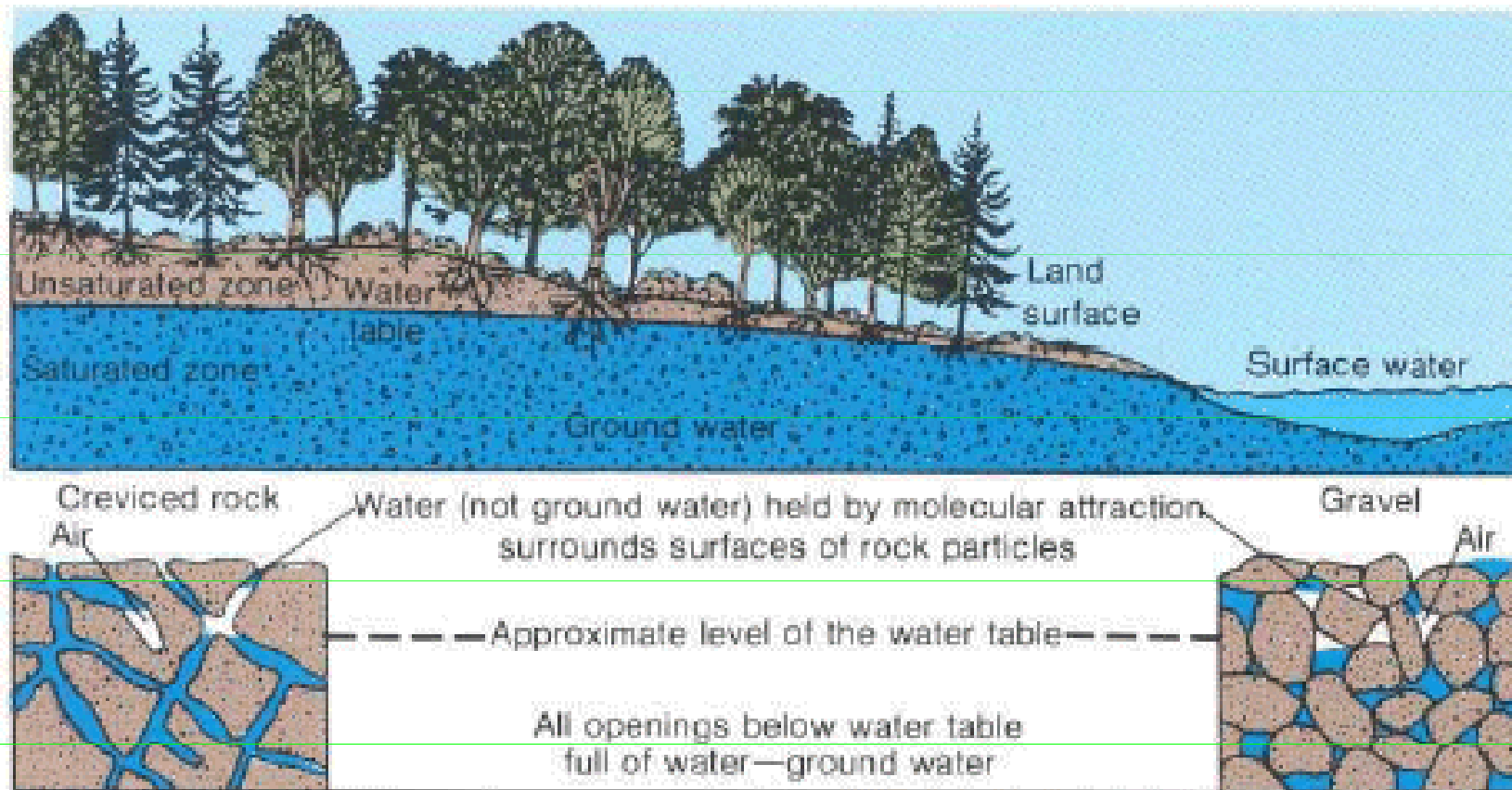
- Chemické faktory

- \*pH
- \*Oxidoredukční potenciál
- \*Povrchově aktivní látky
- \*Dezinfekční látky
- \*Těžké kovy
- \*Chemoterapeutika
- \*Antibiotika



# Fyzikální faktory - **sucho**

- Většina mikroorganismů vyžaduje volně přístupnou vodu
- Některé aktinomycety mohou využívat i vodu hygroscopickou (xerofilní organizmy)
- Při nedostatku vody dochází k dehydrataci buněk, snižuje se metabolická aktivita a mění se velikost protoplastu - **plyzmolýza**. Při dlouhodobém nedostatku – odumření buňky
- Velmi citlivé jsou k nedostatku vody G<sup>-</sup> koky, zejména gonokoky a meningokoky (odumírají po několika hodinách)
- Odolné jsou mykobakterie (*M.tuberculosis* v suchém sputu přežívá i několik týdnů), klidové formy a spory bakterií
- **Lyofilizace** – odejmutí vody při velmi nízké teplotě ve vakuu. Možnost revitalizace. “Konzervace“ mikroorganismů

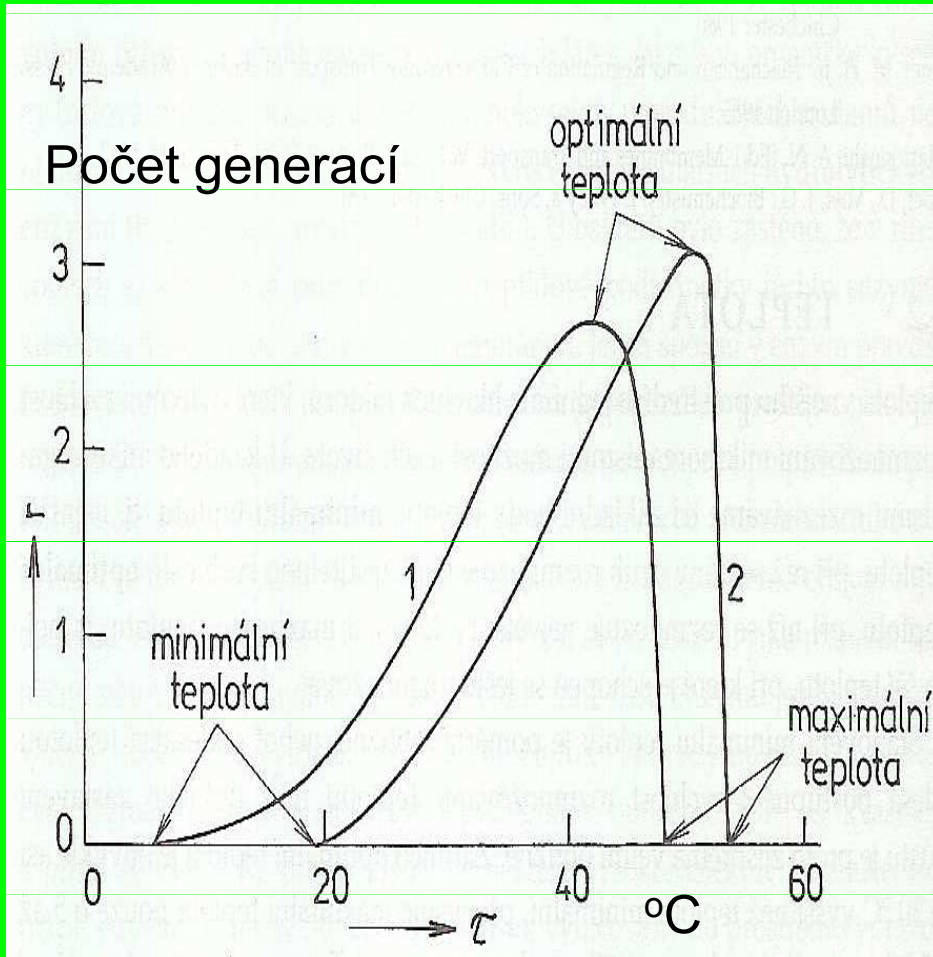


Soil water is held in the pore spaces between particles of soil. Soil water is the water that is immediately available to plants. Soil water can be further sub-divided into three categories, 1) hygroscopic water, 2) capillary water, and 3) gravitational water. **Hygroscopic water** is found as a microscopic film of water surrounding soil particles. This water is tightly bound to a soil particle by molecular attraction so powerful that it cannot be removed by natural forces. Hygroscopic water is bound to soil particles by adhesive forces that exceed 31 bars and may be as great as 10,000 bars (Recall that sea level pressure is equal to 1013.2 millibars which is just about 1 bar!).

**Capillary water** is held by cohesive forces between the films of hygroscopic water. The binding pressure for capillary water is much less than hygroscopic water. This water can be removed by air drying or by plant absorption, but cannot be removed by gravity. Plants extract this water through their roots until the soil capillary force (force holding water to the particle) is equal to the extractive force of the plant root. At this point the plant cannot pull water from the plant-rooting zone and it wilts (called the **wilting point**).

**Gravity water** is water moved through the soil by the force of gravity. The amount of water held in the soil after excess water has drained is called the **field capacity** of the soil. The amount of water in the soil is controlled by the soil texture. Soils dominated by clay-sized particles have more total pore space in a unit volume than soils dominated by sand. As a result, fine grained soils have higher field capacities than coarse-grained soils.

# Fyzikální faktory - teplo



1 - *E.coli*

2 - *Lactobacillus plantarum*

- Organizmy vykonávají svoje životní pochody v určitém teplotním rozpětí, charakterizovaném
- **Minimem** – nejnižší teplota, při níž je možné zaznamenat množení
- **Optimem** – rozmnožování nejvyšší rychlostí
- **Maximem** – nejvyšší při níž se ještě rozmnožují

# Fyzikální faktory - teplo

°C	-10	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90
<i>Micrococcus cryophilus</i>	.....										
<i>Pseudomonas allopripitans</i>		.....									
<i>Escherichia coli</i>			.....								
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>					.....						
<i>Bacillus subtilis</i>					.....						
<i>Bacillus coagulans</i>						.....					
<i>Bacillus stearothermophilus</i>							.....				

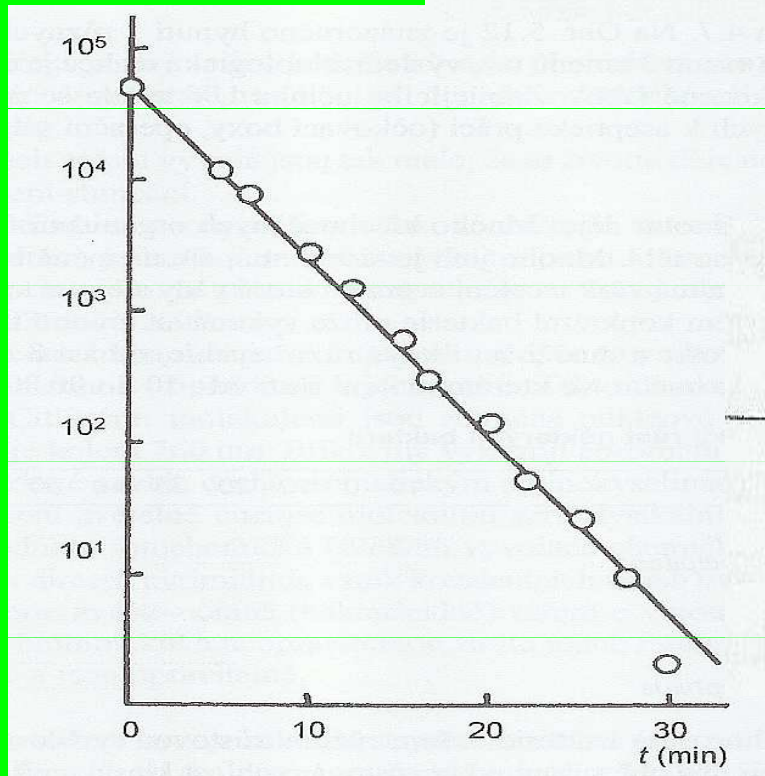
- **Psychofilní** – rostou při teplotách pod +20°C (0 – 5).
- Výskyt – oceány, hluboká jezera, studené prameny. Některé organizmy mohou růst i při -10°C. V laboratorních podmínkách se snadno přizpůsobí vyšším teplotám
- **Mezofilní** – růst při +20 – 40 °C. Většina organismů saprofytických i parazitických
- **Termofilní** – teplota růstu +30 – 90 °C , v chlívské mrvě, kompostu. Termofilní *Euryarcheota* mají maximální teplotu pro růst vyšší než 113°C (*Pyrolobus fumarii*, *Pyrococcus furiosus* )
- **Extremně termofilní** rostou v horkých hlubinných mořských pramenech (+350 °C)
- **Teplotní šok** - krátkodobé zvýšení teploty nad maximální hodnotu vyvolává tzv. teplotní šok, který vede k výkyvům metabolismu, za současné syntézy ochranných látek, především proteinů teplotního šoku („heat shock proteins“, HSPs), které náleží mezi prvky obecné stresové odezvy.
- **Chladový šok** (při teplotách -15 až -20°C **přežívají** bakterie více než rok) –zastavení růstu a později opět jeho obnovení

# Fyzikální faktory – letální účinek tepla

- Mechanismus spočívá v denaturaci bílkovin a s ní spojené inaktivaci jednoho nebo více enzymů
- Zablokování celkové aktivity může způsobit i inaktivace jediného životně důležitého enzymu s nejnižší inaktivační teplotou
- Letální účinek závisí nejen na teplotě a době působení, ale i na vnějších podmínkách prostředí (suché a vlhké teplo, kyselé a alkalické prostředí, ...)
- Letálního působení tepla se využívá při sterilizaci živných medií, nástrojů, oděvů, v potravinářství (konzervace, ...)

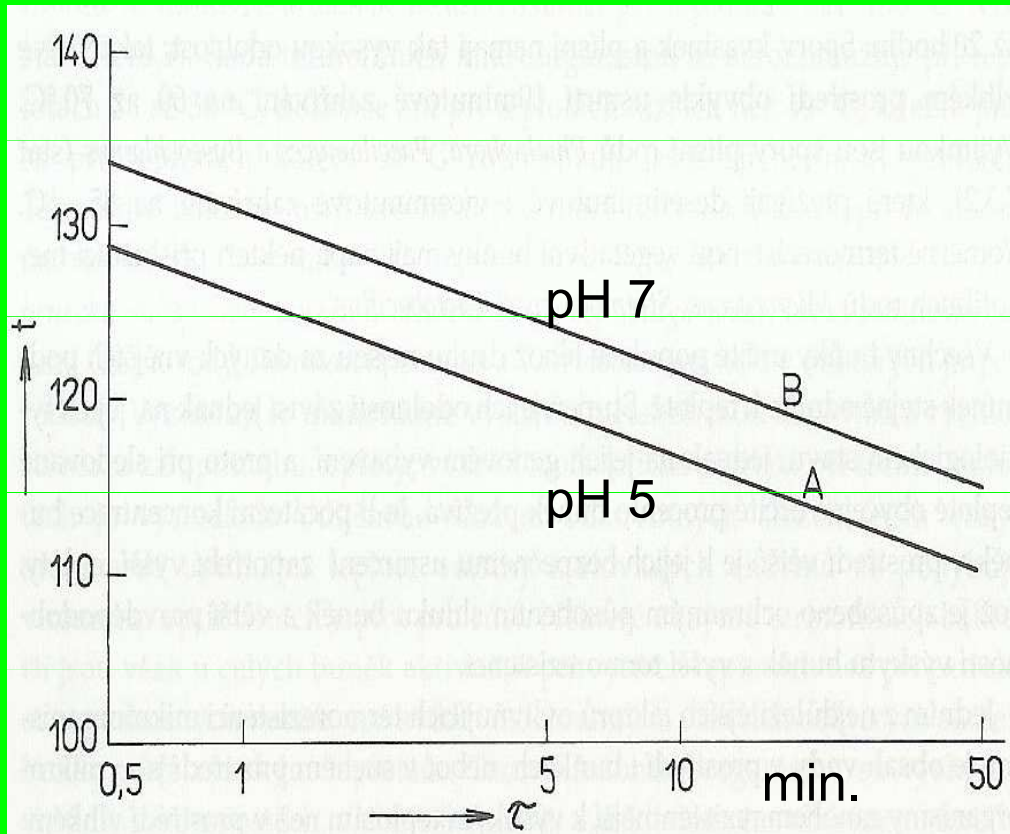
# Fyzikální faktory – sterilizace teplem

Teplota °C	Nasycená vodní pára			Suché teplo		
	MPa	Přetlak (atm)	Sterilizační doba	Teplota °C	Sterilizační doba	
100	0	0	20 hodin	120	8 hodin	
109	0,03	0,33	2,5 hodin	140	2,5 "	
115	0,07	0,67	50 minut	160	1 "	
121	0,10	1,00	15 "	170	40 minut	
126	0,13	1,33	10 "	180	20 "	
134	0,20	2,00	3 "			



Přetlak		Teplota vodní páry (°C)		
MPa	(atm)	čistá vodní pára	polovina vzduchu odstraněna	žádný vzduch neodstraněn
0,03	0,33	109	94	72
0,07	0,67	115	105	90
0,10	1,00	121	112	100

# Fyzikální faktory – sterilizace teplem



Přežívání spor *C. botulinum*

$t$  – teplota sterilizace- °C

$\tau$  - doba sterilizace (min.)

- **Doba tepelné smrti** – nejkratší doba potřebná pro usmrcení bakteriální populace za určité teploty a dodržení ostatních parametrů

$$t = -k \log \tau + q$$

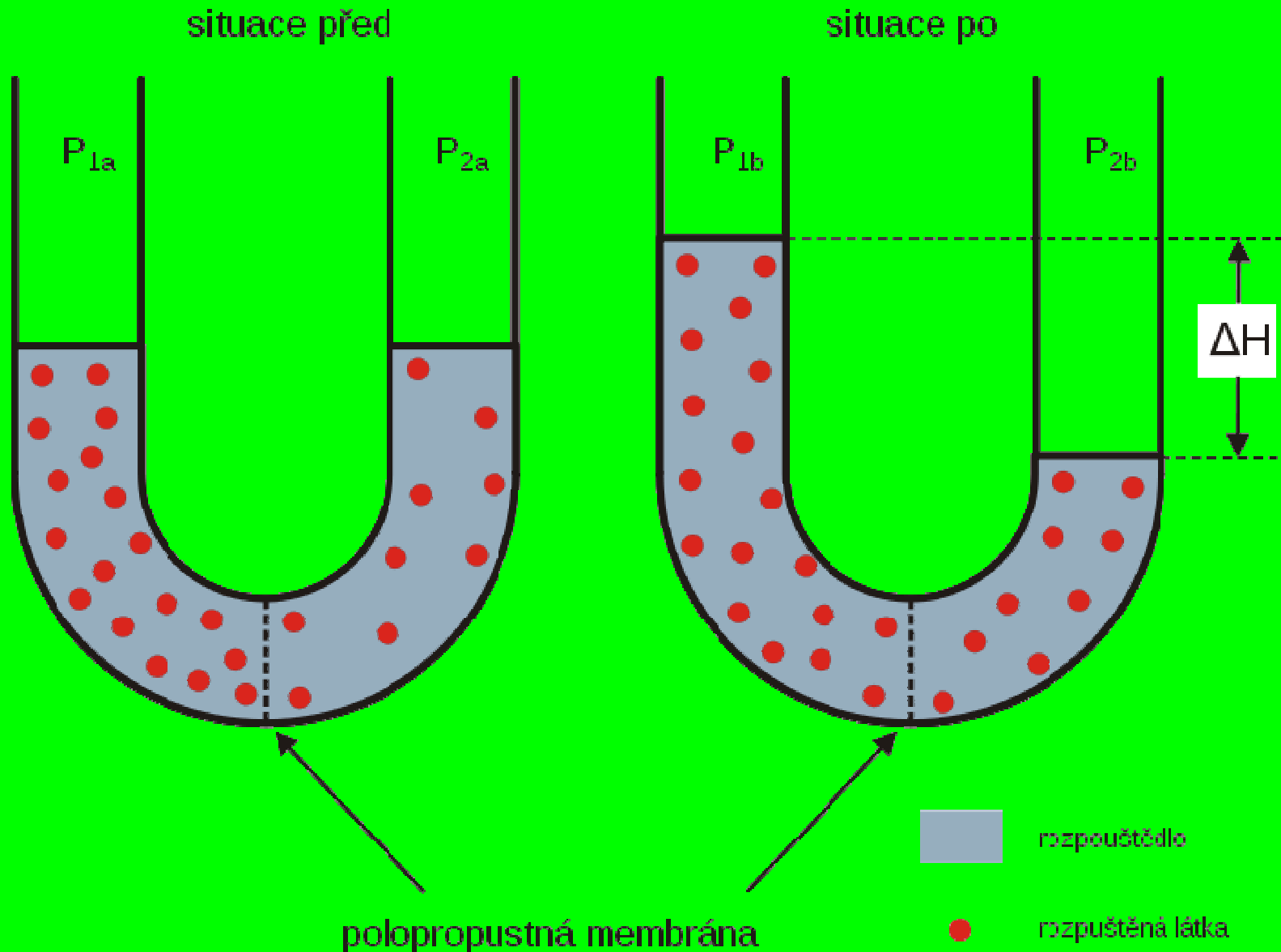
# Fyzikální faktory – pasterace

- Jednorázové zahřátí na teplotu pod 100 °C – odstraňovány jsou pouze vegetativní formy mikroorganismů
- Pasterují se hlavně potraviny, které by při zvýšené teplotě ztratily nutriční hodnotu nebo by se poškodila chuť (mléko, pivo, víno, ...)
- Teplota pasterace
  - \*62,9 °C – do 30 minut
  - \*71,6 °C – 15 sec



# Osmotický tlak

je tlak toku rozpuštědla pronikajícího přes semipermeabilní (polopropustnou) membránu do roztoku, ve kterém je vyšší koncentrace rozpuštěných molekul nebo iontů. Je závislý na teplotě a koncentraci roztoku.



# Fyzikální faktory – osmotický tlak

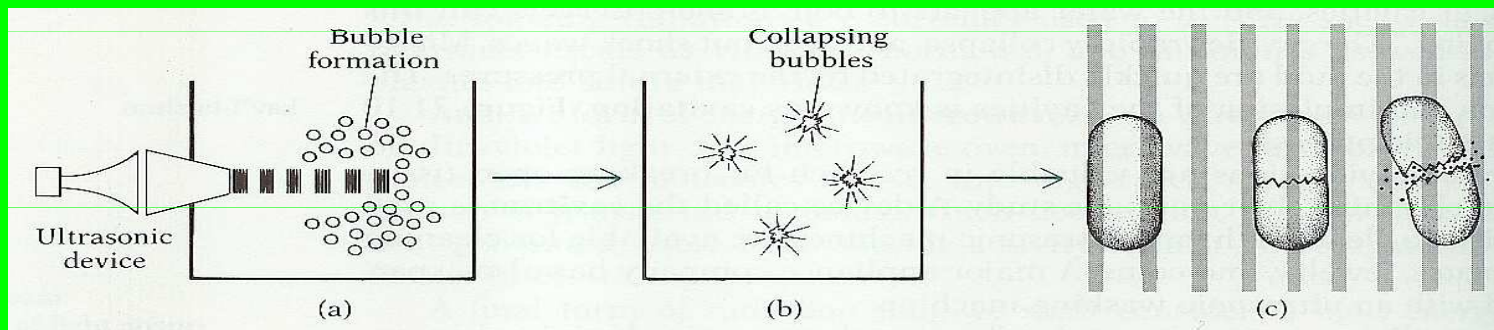
- Tlak mezi vnějším a vnitřním prostředím buňky dosahuje 0,5 až 2,0 MPa (5-20 atm). Tento tlak je fyziologický a je kompenzován buněčnou stěnou
- V hypertonickém prostředí je znemožněn příjem vody – fyziologické sucho kolem buňky. Po delší době působení buňky (zmenšení objemu protoplastu) podléhají plasmolýze – odumření buňky
- Hypotonické prostředí zvětšuje množství vody v buňce → zvýšení turgoru → ruptura buňky (plazmoptýza)
- Využití při konzervování potravin 10-15% solí, 5-70% cukrů
- Halotolerantní nebo halofilní organizmy – změna osmolarity vnitřního prostředí, tak aby zůstal tlak zachován (většinou produkce některých látek – glycerol, ..)

# Fyzikální faktory – tlak

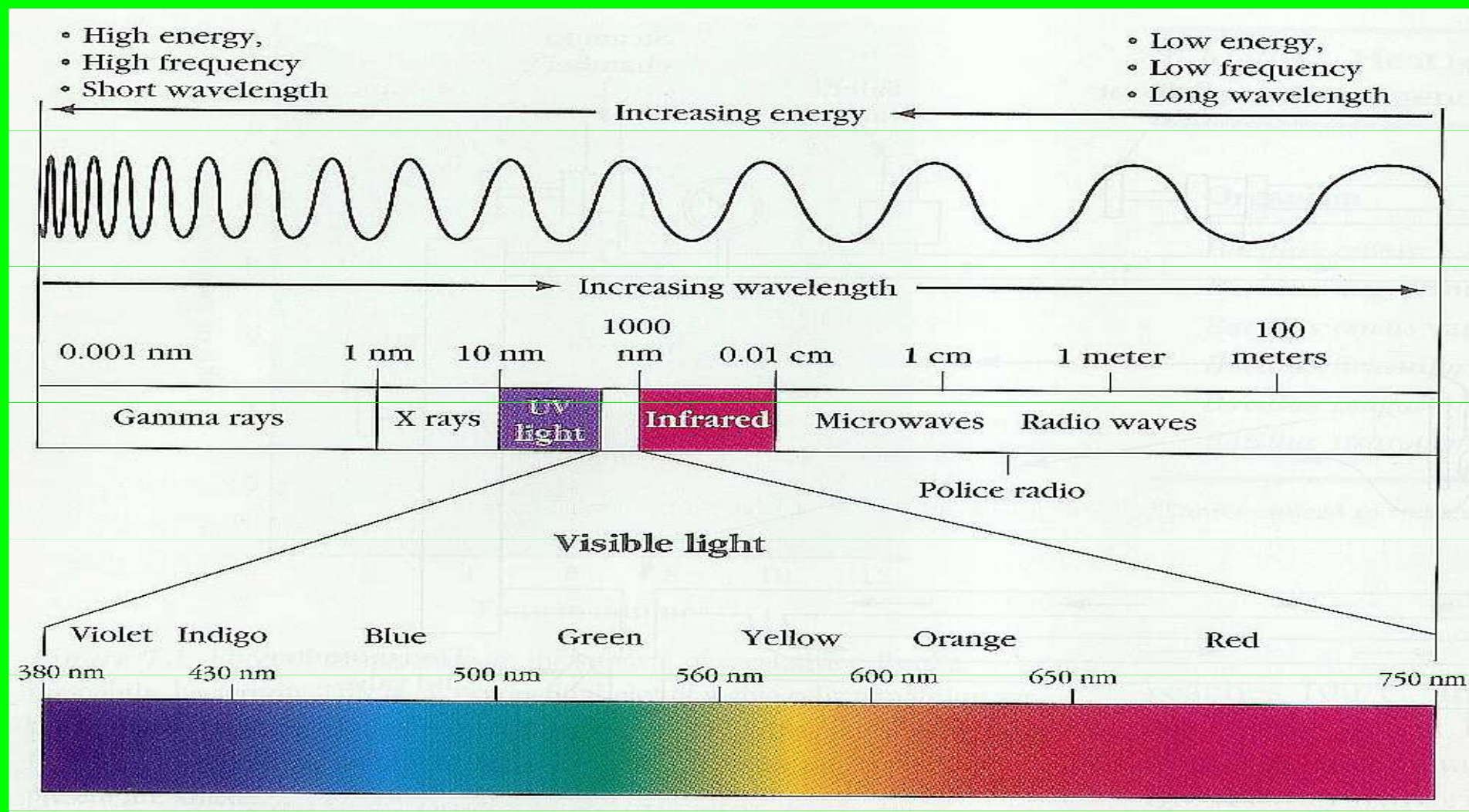
- Většina mikroorganismů žije za normálního atmosférického tlaku. Běžným bakteriím zvýšený tlak vadí nepatrně – do 10MPa (100 atm) neovlivňují vůbec životní projevy
- Tlaky 10 – 50 MPa zastavují růst i množení.
- Barotolerantní bakterie – v oceánech do hloubky 4000 m
- Barofilní bakterie – hloubky větší než 5000 m (rostou ale i za normálního tlaku !)
- Obligatorně barofilní – hloubky větší než 10000 m (doba zdvojení delší než 1 den)
- 10 km pod hladinou – 100 MPa

# Fyzikální faktory – **ultrazvuk**

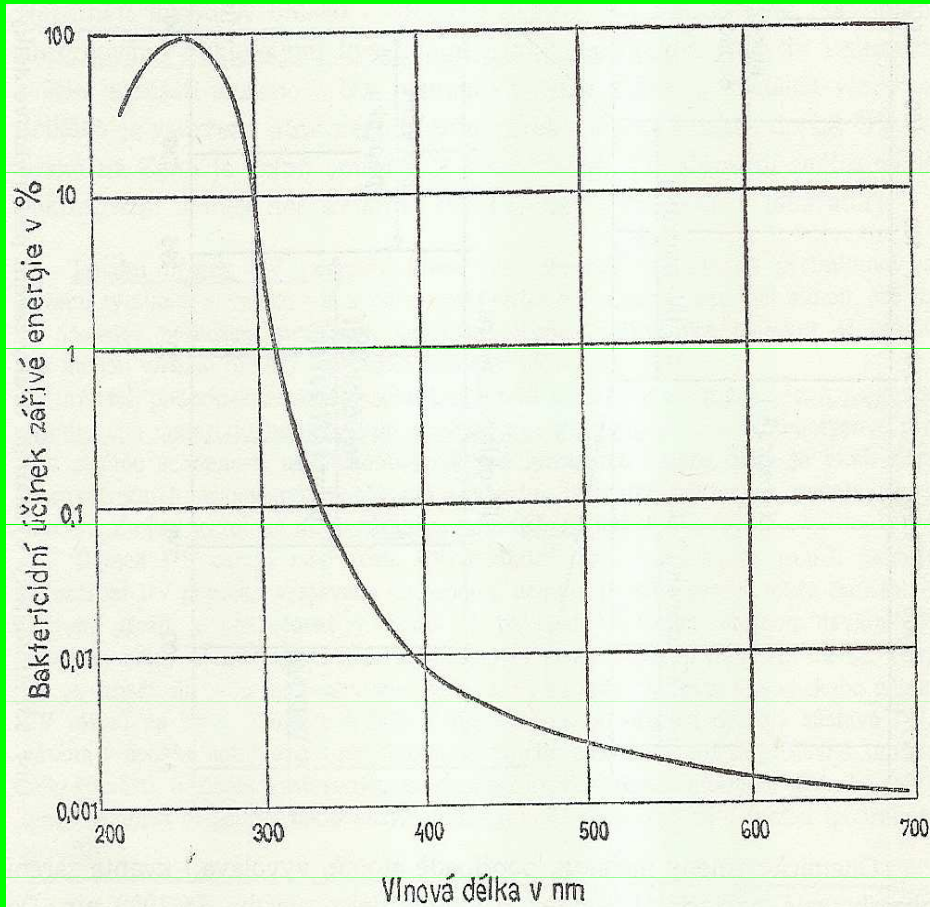
- Zvukové vlny o frekvenci vyšší než 24kHz s intenzitou kolem 10 W/cm<sup>2</sup>
- **Kavitační ultrazvuk** – uvolňování plynů rozpuštěných v kapalině (prostředí, základní cytoplazma) (ultrazvuková liposukce)
- Mechanismus účinku – přímo mechanicky nebo změnou tlaku vyvolaným uvolněným plynem. V některých případech i inhibiční efekt látek vznikajících po účinku ultrazvuku z media (z chloridů – volný chlór)
- Největší účinek na vláknité organizmy a G- tyčky. Nejmenší na kvasinky a G+ koky.
- Letální účinek je tlumen zvýšenou viskozitou prostředí, přítomností bílkovin nebo látek zvyšujících povrchové napětí
- **Letální účinek ultrazvuku nikdy není 100% !**



# Fyzikální faktory – záření

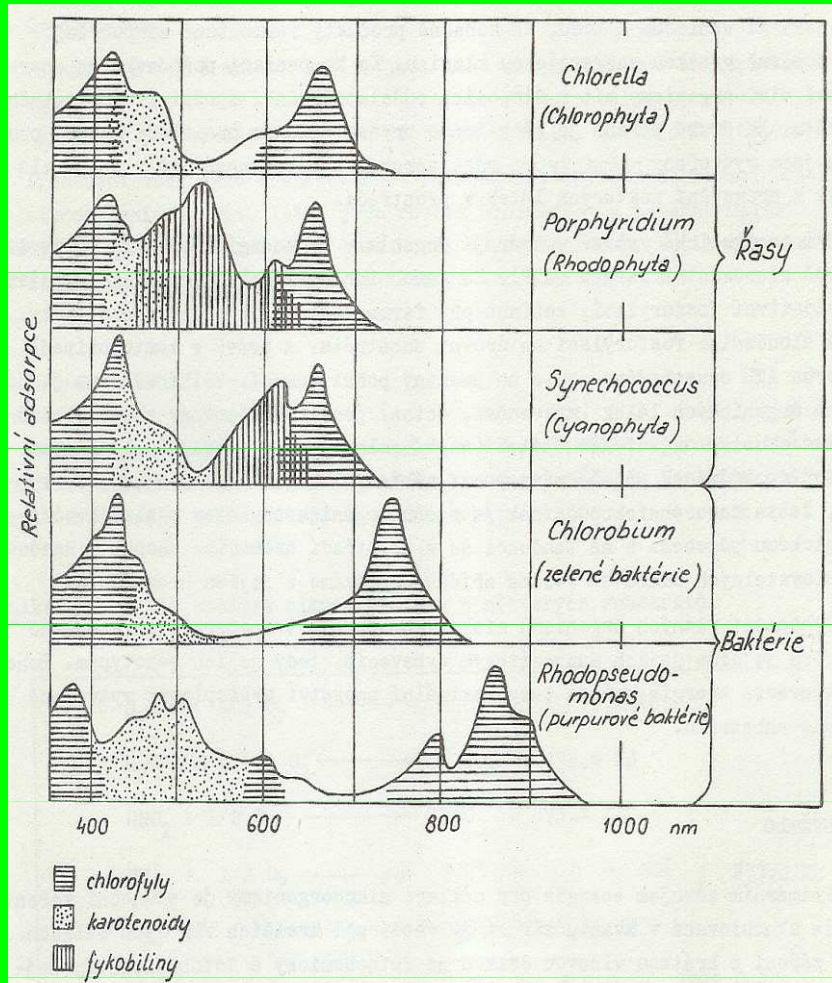


# Fyzikální faktory – záření



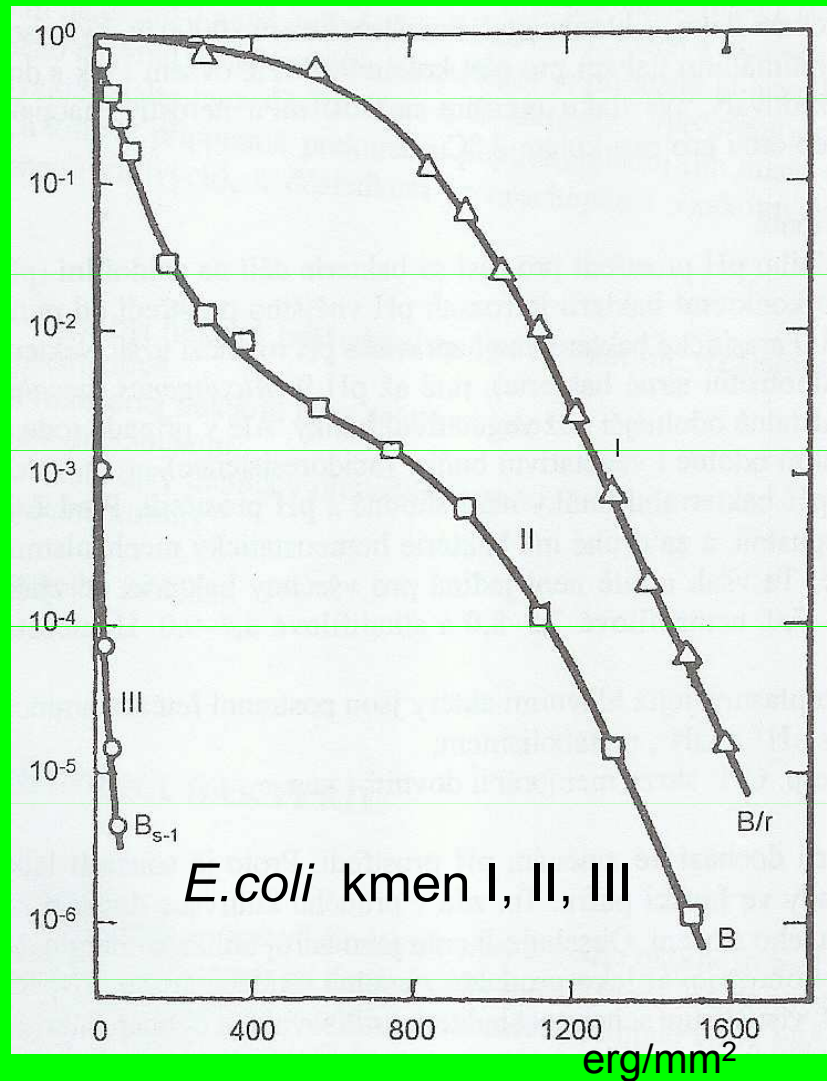
- Na mikroorganismus působí škodlivě každé záření, které je buňkou adsorbováno a vyvolává v ní chemické změny
- Míra účinku je závislá na množství získané energie – kvantu
- Energie ve světelném kvantu nepřímo závisí na vlnové délce
- Chemické změny molekul nebo atomů, vyvolávají kvanta o vlnové délce asi do 1000 nm

# Fyzikální faktory – viditelné světlo



- Viditelné světlo 380-760 nm (případně 800-900 nm) – zdroj energie pro fototrofní mikroorganismy
- Mechanismus účinku na ostatní mikroorganismy není dosud znám
- Některé organismy se rozmnožují lépe za tmy než za světla (a obráceně)
- Ke sporulaci řady plísní a vybarvení spór je nutné světlo
- Tvorba většiny karotenoidních pigmentů je indukována světlem
- **Fototropismus** – sporangia *Zygomycetes* se obracejí ke světlu
- **Fotodynamický účinek** – působením světla se zvyšuje účinek některých látek (metylenová modř, eosin, ...)

# Fyzikální faktory – **ultrafialové záření**



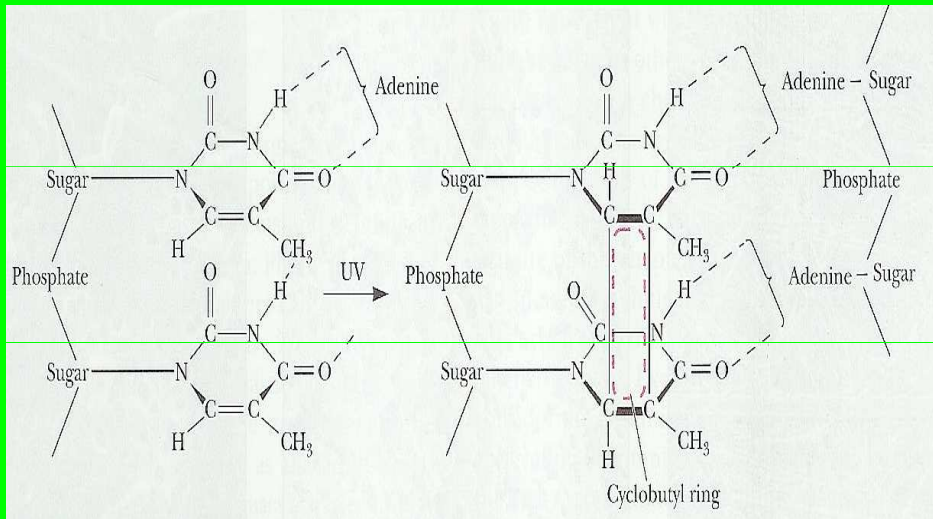
- Silné mutagenní a letální účinky
- Nejčastěji se využívá v oblasti s vlnovou délkou kolem 265 nm
- Vlnové délky germicidních lamp – 210-310 nm
- Intenzita účinku je závislá na množství pohlceného záření a klesá se čtvercem vzdálenosti od zdroje
- Pronikavost UV je velmi malá – využití pro sterilizaci předmětů, pracovních ploch, zařízení, ...
- **Citlivost mikroorganismů k UV je velmi odlišná** (i v rámci jednoho druhu!!)
- Vegetativní buňky jsou citlivé, klidové formy odolné. Odolnost se také zvyšuje s obsahem karotenoidních pigmentů

Rychlost odumírání je dána  $-\frac{dn}{dt} = kn$

n-počet buněk, t-čas



# Fyzikální faktory – ultrafialové záření



- UV je adsorbováno nukleovými kyselinami a nukleoproteiny
- Nejvíce - thyminem a cytozinem – ionizace a excitace atomů
- Důsledek – tvorba dimerů pyrimidinů, vznik kovalentních vazeb uvnitř molekuly, přetržení řetězce, ...
- Zvláště negativně působí UV o vlnové délce menší než 210 nm. Účinky záření v rozmezí 210-300 jsou opravitelné
- **Fotoreaktivace** (fotoreparace) – oprava účinků UV vlivem viditelného světla – indukce enzymů štěpících pyrimidinové dimery

# Fyzikální faktory – X a $\gamma$ paprsky

- Značná penetrační schopnost
- Působí na všechny buňky (včetně vyšších organizmů)
- Mechanismus – ionizace molekul intracelulární vody za tvorby volných hydroxylových radikálů, vznik oxiranů (epoxidy – organické látky s trojčlenným kruhem obsahujícím kyslík), přímý účinek na DNA (indukce zlomů chromozomů)
- Velmi citlivé jsou G- bakterie, méně G+ , kvasinky a plísně
- Účinnost se výrazně zvyšuje přítomností O<sub>2</sub>, látky silně redukující (askorbová kyselina, sulfhydrylové skupiny) působí protektivně
- K dosažení letální dávky pro mikroorganismy je potřebí 10<sup>4</sup> krát větší dávky než pro člověka
- Využití při sterilizaci některých potravin, léků, obvazového materiálu, ... (Účinkem se mohou měnit některé fyzikální a chemické vlastnosti)
- **Radiopasterace** – k potlačení klíčivosti brambor a cibule, prodloužení skladovatelnosti jahod atd.

- Chemické faktory

- \*pH

- \*Oxidoredukční potenciál

- \*Povrchově aktivní látky

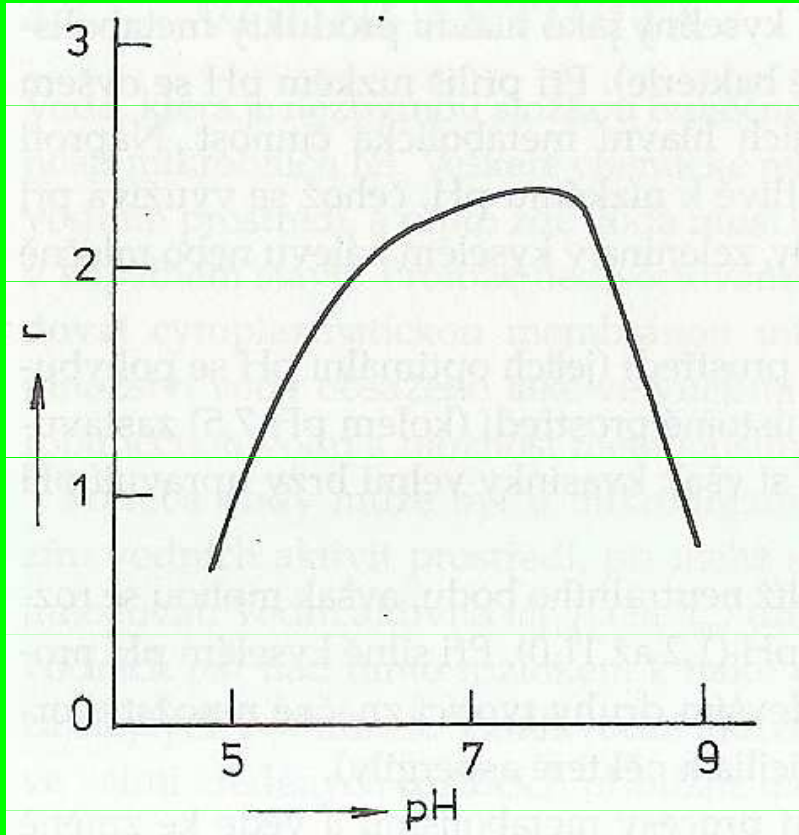
- \*Dezinfekční látky

- \*Těžké kovy

- \*Chemoterapeutika

- \*Antibiotika

# Chemické faktory - pH



- Každý organismus má jiné pH pro **optimální růst**
- Každý druh může růst jen v určitém rozmezí pH
- Pro většinu bakterií a kvasinek je rozpětí úzké, pro plísně široké
- Většina bakterií roste v rozmezí pH 6-7, kvasinky 4,2-5,5
- Krátkodobé změny pH prostředí jsou kompenzovány aktivním transportem
- Buňka udržuje intracelulární pH ve velmi úzkém rozmezí

# Chemické faktory - pH

- **Acidofilní** – optimální pH na kyselé straně (*Thiobacillus* pH 1)
- **Alkalifilní** – optimum kolem pH 10 (urobakterie, denitrifikační bakterie, mikroorganismy s výraznou proteolytickou aktivitou)
- Vnější pH má i regulační funkci (silně alkalické prostředí – zvýšená produkce glycerolu u kvasinek, ...)
- Vnější pH mění termotoleranci (odolnost je tím menší, čím větší je odchylka od optimálního pH)
- Nízké hodnoty pH zabraňují germinaci bakteriálních spór (*Bacillus*, *Clostridium*, *Desulfotomaculum*)

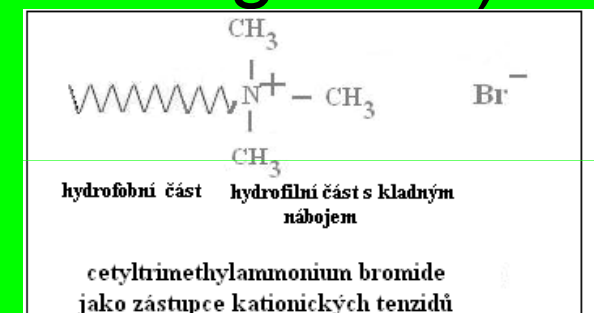
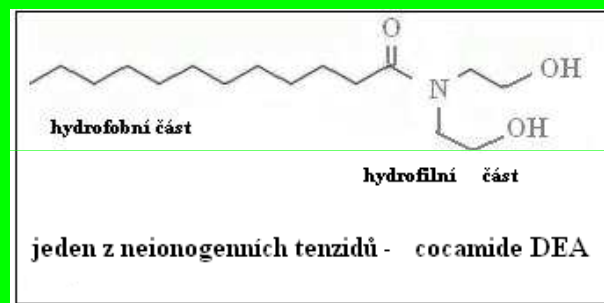
Mikroorganismus	pH		
	minimální	optimální	maximální
<i>Escherichia coli</i>	4,3	6,0-8,0	9,5
<i>Bacillus subtilis</i>	4,5	6,0-7,5	8,5
<i>Clostridium botulinum</i>	4,7-5,0*)	6,5-7,2	9,0
<i>Lactobacillus sp.</i>	3,8-4,4*)	5,4-6,4	7,2
<i>Thiobacillus thioparus</i>	4,5	6,6-7,2	7,8-10,0*)
<i>Thiobacillus thiooxidans</i>	0,5	2,0-3,5	6,0
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	3,0-3,8*)	4,2-5,0	7,3-7,5*)
<i>Aspergillus niger</i>	1,2	3,0-8,0	11,0

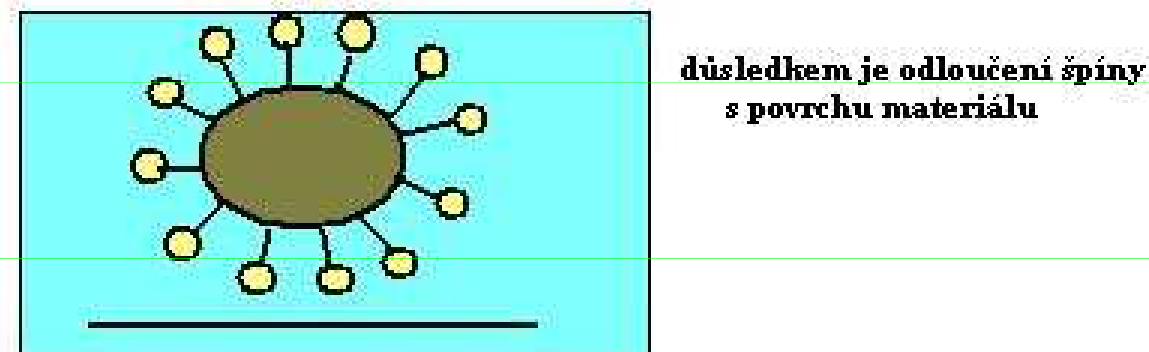
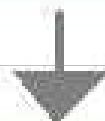
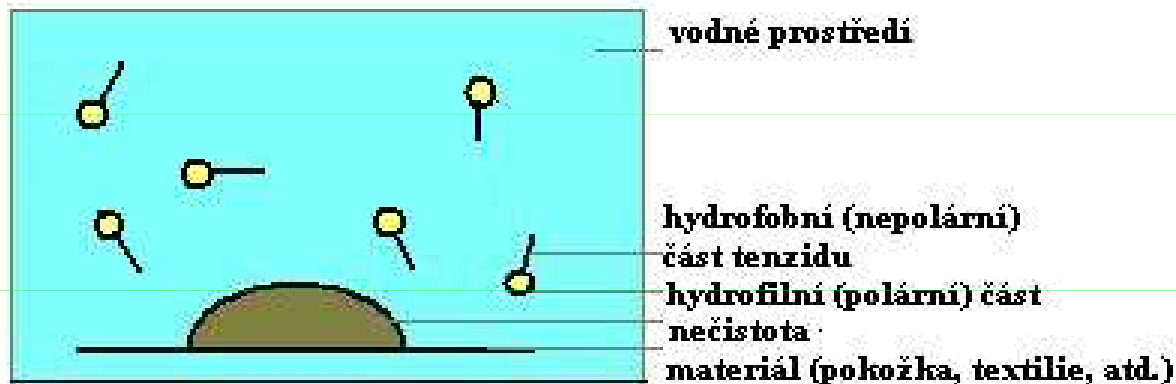
# Chemické faktory - $E_H$

- Každé prostředí zahrnuje určitý oxidačně redukční (oxidoredukční, redoxní) potenciál – je dán přítomností oxidujících a redukujících látek
- Kladné hodnoty  $E_H$  charakterizují oxidační, záporné redukční prostředí
- **Oxidační látky** –  $O_2$ , dusičnany,  $Fe^{3+}$ , peroxidy, ...
- **Redukující látky** –  $Fe^{2+}$ ,  $H_2$ , sloučeniny se sulfohydroxylovou skupinou nebo reaktivními dvojnými vazbami, ...
- Oxidačně redukční potenciál je ( $E_H$ ) – rozdíl potenciálu mezi platinovou a vodíkovou elektrodou
- Pro aerobní mikroorganismy je vhodné  $E_H$  v rozmezí **+0,2 až +0,4 V** (při pH 7,0)
- Pro anaerobní méně než **-0,2 V**
- Snížení hodnot  $E_H$  se dosáhne přidáním kyseliny askorbové, cysteinu, kyseliny tioglykolové (v “upraveném” prostředí potom mohou růst i anaerobní organismy – *Clostridium*, *Streptococcus*, ... - v přítomnosti kyslíku)
- Redoxní potenciál kultivačního prostředí se mění v průběhu kultivace (změna pH a produkty metabolismu, které mají povahu redoxních systémů –  $H_2O_2$ ,  $H_2$ , ...)

# Chemické faktory - povrchově aktivní látky

- Sloučeniny s molekulou tvořenou hydrofilní a hydrofobní částí
- Jejich přidáním do media se snižuje jeho povrchové napětí – tenzidy (smáčedla)
- **Anionaktivní tenzidy** (aniontová smáčedla) – mýdla, jar (výborná smáčivost)
- **Kationaktivní tenzidy** (kationtová detergencia) – invertní mýdla (horší smáčivost) - CTAB
- **Neionogenní tenzidy** (neionizovaná detergencia) (horší smáčivost)





# Proces mytí/praní

Nečistoty jsou zpravidla nepolárního (hydrofobního) charakteru

Tenzid se jedním (nepolárním) koncem naváže na nepolární špínu a druhým koncem (polárním) na molekuly vody.

V důsledku jsou tedy částice nečistot molekulami tenzidu obklopeny, a tím pádem rozptýleny ve vodném roztoku.

Tak jsou nečistoty s povrchu materiálu odstraněny a následně mohou být odplaveny vodou.

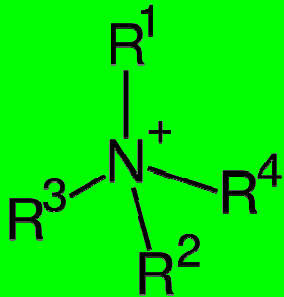
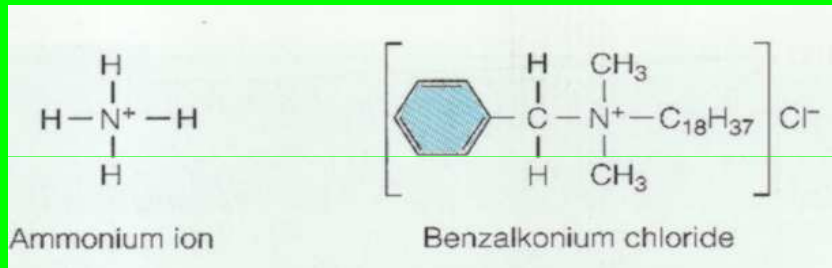


# Chemické faktory - anionaktivní tenzidy

- Funkční skupiny -  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{SO}_3\text{H}$ ,  $-\text{OSO}_3\text{H}$ ,  $-\text{OPO}(\text{OH})_2$ 
  - \*monofunkční  $\text{R-COOMe}$  (alkalická mýdla vyšších mastných kyselin)
  - \*bifunkční – 2 polární skupiny (obě nebo jedna disociována)  $\text{R-xR1-COOMe}$  (R – hydrofobní radikál, R1 – alkylenový můstek, x - nedisociovaná polární skupina [ $-\text{SO}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{O}-$ ,  $-\text{SO}_2-$  ])
- **Ve vyšších koncentracích** poškozují cytoplazmatickou membránu, způsobují denaturaci bílkovin
- **Při nižších koncentracích** pronikají do buňky a ovlivňují metabolismus
- Alkylsulfáty a alkylsulfonáty jsou intezivní smáčedla a ovlivňují účinnost dezinfekčních prostředků – použití v potravinářském průmyslu, dezinfekční mýdla, ....



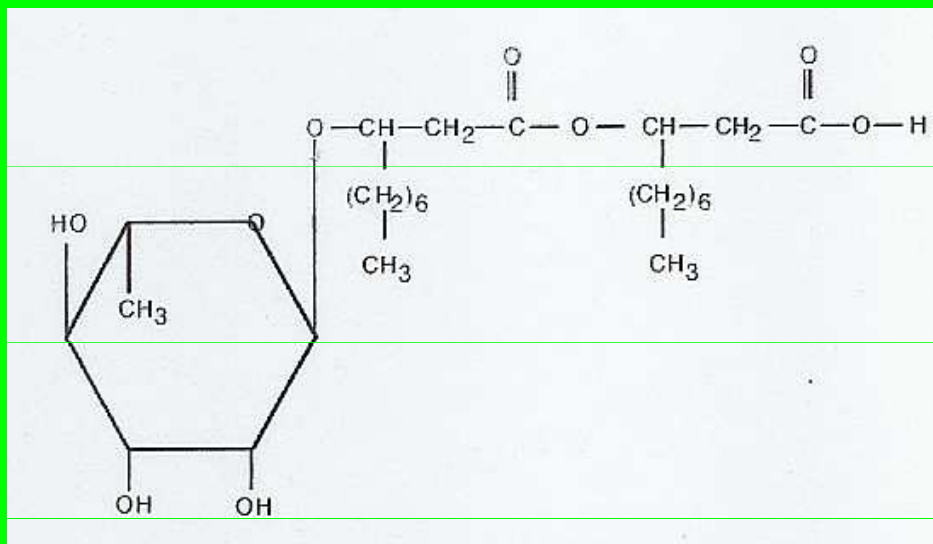
# Chemické faktory - kationaktivní tenzidy



Kvartérní amoniové kationy jsou kladně nabité víceatomové ionty struktury  $NR_4^+$ , kde R jsou alkylové skupiny.

- Dusíkaté organické sloučeniny – zejména kvarterní amoniové (nebo pyridiniové) sole
- Bez dusíkaté organické sloučeniny – obsahují S, J, P
- Kvarterní amoniové sole působí baktericidně (především na  $G^+$ , méně na  $G^-$ ), fungicidně, amoebicidně, virucidně
- Nepůsobí na mykobakterie a bakteriální endospóry
- Smáčecí schopnost je malá
- Používají se jako dezinfekční látky, tenzidy, změkčovače textilu a antistatická činidla (například v šamponech).

# Chemické faktory – neionogenní tenzidy

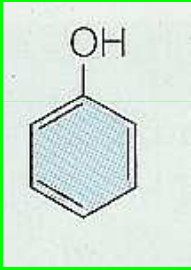


(α-L-rhamnopyranosyl-β-hydroxydecanoyl-  
β-hydroxydecanoate)

- Rozpustnost ve vodě je dána jejich silnou afinitou k H<sub>2</sub>O
- Tenzidy s eterickým můstkem [R-O(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-H]
- Tenzidy s aminovým nebo amidickým můstkem
- Tenzidy s esterovým můstkem (estery vyšších mastných kyselin s polyglykoly, glycerolem, mono nebo disacharidy, ...)
- Hromadí se na rozhraní dvou fází (prostředí x povrch buňky)
- Umožňují vhodné rozptýlení shluklých buněk
- Zefektivňují příjem živin a exkreci metabolitů
- Jsou využívány při degradaci polutantů

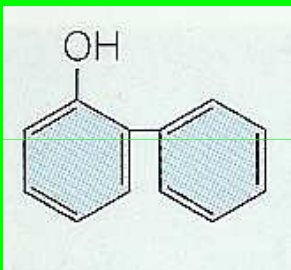
# Dezinfekční látky

- Používají se k odstraňování mikroorganismů, zárodků infekce z vnějšího prostředí (dezinfekce kontaminovaného povrchu, náčiní, nástrojů, pokožky atd.)
- Základní podmínkou použití dezinfekční látky (**dezinfektantu**) je toxicita pouze pro mikroorganismus (při nízkých koncentracích) a jeho stabilita
- **Nejpoužívanější dezinfektanty**
  - fenol,
  - fenolické sloučeniny,
  - halogeny,
  - alkoholy
  - těžké kovy,
  - silná oxidovadla ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{KMnO}_4$ )
  - barviva,
  - syntetické tenzidy,
  - některé plyny

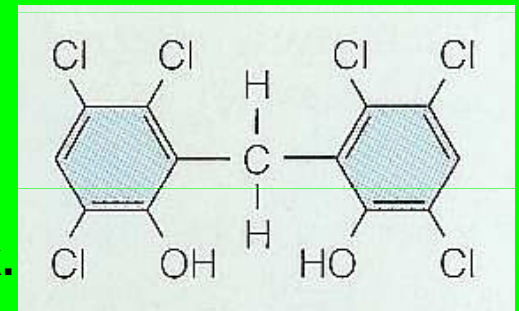


# Dezinfekční látky - fenol

- Účinek – snížení povrchového napětí prostředí s následným porušením buněčné stěny
- Při koncentraci vyšší než 1% má výrazný antimikrobiální účinek
- Používá se pro dezinfekci kontaminovaných nástrojů, sputa, moči, .....
- **Fenolový koeficient** – pro srovnání účinnosti dezinfekčních přípravků (poměr mezi letální koncentrací srovnávaného preparátu a fenolu při nejvyšším ředění po 10 minutách působení)



Pro výpočet fenolového koeficientu se koncentrace látky, která zabije testovací organismus za 10 minut, ale nikoli za 5 minut, dělí koncentrací fenolu, která zabije tento organismus za stejných podmínek.



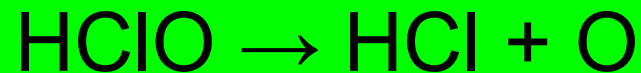
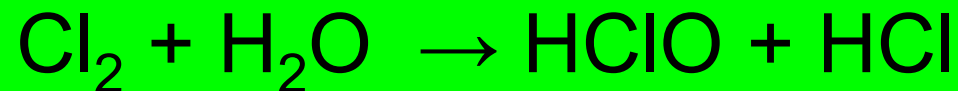
# Dezinfekční látky - alkoholy

- Mechanismus účinku – denaturace bílkovin, narušení membrán, rozpouštění lipidů a lipidických frakcí
- Působí na bakterie, houby obalené viry. Nepůsobí na klidová stadia
- Účinnost alkoholů stoupá s jejich molekulovou hmotností
- **Nejčastěji používané** – etanol, isopropanol

Concentration of Ethanol (%)	Time (sec)				
	10	20	30	40	50
100	-	-	-	-	-
95	+	+	+	+	+
90	+	+	+	+	+
80	+	+	+	+	+
70	+	+	+	+	+
60	+	+	+	+	+
50	-	-	+	+	+
40	-	-	-	-	-

# Dezinfekční látky – halogeny - Cl

- Chlór jako plyn se používá v technologii čištění vody
- Chlornany a chloraminy (Chloramin B, R, Chlorseptol)
- Mechanismus účinku je v tvorbě kyseliny chlorné s následným rozkladem na kyslík ve stavu zrodu



- Působí na vegetativní i klidová stadia

# Dezinfekční látky – halogeny - I

- Jód vykazuje silné antimikrobiální účinky především na vegetativní stadia
- Mechanismus účinku – vazba na bílkoviny a inhibice enzymatické aktivity
- V praxi se nejčastěji používá alkoholický roztok jódu k dezinfekci pokožky



# Dezinfekční látky – těžké kovy



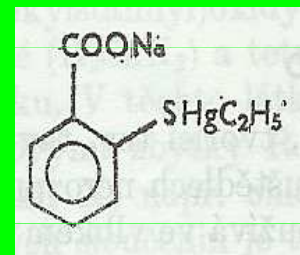
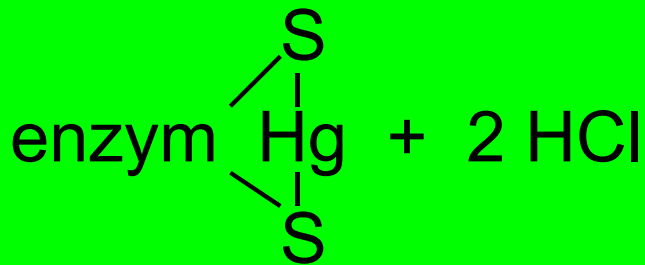
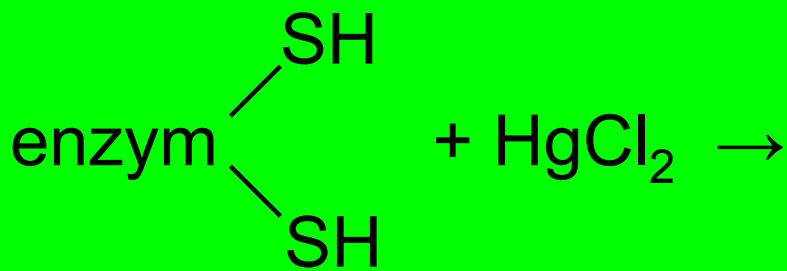
- Některé kovy vykazují silný antimikrobiální efekt – stříbro, měď, rtuť
- Antimikrobiální aktivita kovů se označuje jako **oligodynamický účinek**
- Kovy působí v relativně nízkých koncentracích
- Mechanismus účinku – vazba na sulfhydrylové skupiny a denaturace bílkovin
- Toxicita stoupá od lehčích k těžším a od jednomocných k dvojmocným

# Dezinfekční látky – těžké kovy

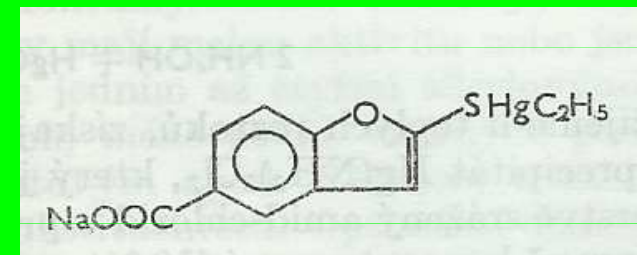
- **Ag** aplikace jako  $\text{AgNO}_3$  ve formě organických nebo anorganických solí
- 1884 – prevence oftalmie u novorozenců ( $\text{AgNO}_3$ )
- Stříbrné ionty jsou velmi reaktivní s bílkovinami a chloridy – to omezuje jejich použití pro použití jako povrchového antiseptika
- Nyní se používají koloidně rozpustné sloučeniny stříbra (Argentum colloidalé – 60-70% Ag a 5-10% proteinátu stříbra)
- Dezinfekce vody (Sagen)
- Používá se i v případech rezistence k antibiotikům
- **Cu** – protihnilobný účinek mědi byl znám již starým Říčanům (uchovávání pitné vody v měděných nádobách).
- Sloučeniny mědi mají bakteriostatický, baktericidní a silný fungicidní účinek
- Aplikace jako anorganické a nebo organické sloučeniny
- Pro konzervaci textilií a celulózových vláken – měďnaté soli kyseliny stearové nebo naftenové, bis(8-hydroxychinolinato)měďnatý komplex
- Ochrana rostlin –chlorid trihydroxid diměďnatý (Kuprikol)
- Při dermatomykózách – měďnaté soli organických kyselin(undecylenová k.)
- **bordóská jícha**, tj.směs vápenného mléka se skalicí modrou - perenospora

# Dezinfekční látky – těžké kovy

- **Hg** - příprava rtuti pro léčebné účely – asi 300 př.n.l.
- Antiseptika ve vodě nerozpustná – HgO (Ungentum luteoli), sulfid rtuťnatý,..
- HgCl<sub>2</sub> a Hg<sub>2</sub>O(CN)<sub>2</sub> jsou silně toxické – použití pro dezinfekci – korozivní účinky
- Organokovové sloučeniny rtuti -



Thiomersal



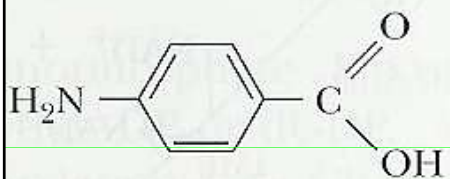
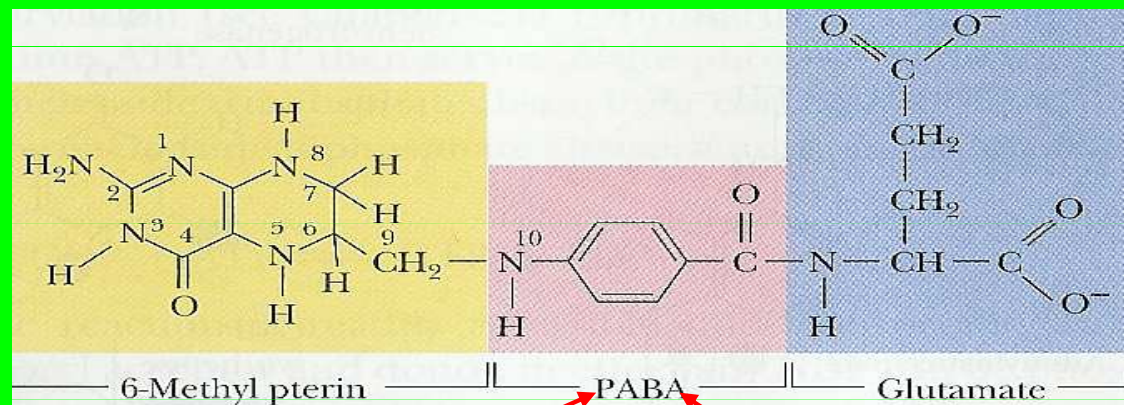
Cialit

# Chemoterapeutika

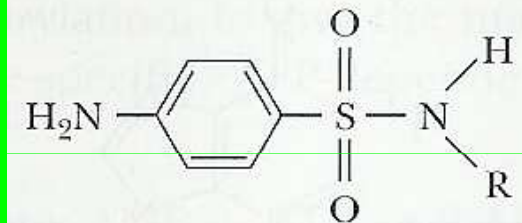
- Mají selektivní antibakteriální (mikrobistatický) účinek
- Inhibují pochody vedoucí k syntéze koenzymů, bílkovin a nukleových kyselin
- Jsou strukturálními analogy esenciálních látek, ale mají větší afinitu k enzymům
- Jejich inhibiční efekt je možné odstranit nadbytkem esenciální látky

# Chemoterapeutika - sulfonamidy

- Sulfonamidy mají vysokou selektivitu
- Bakteriostatický efekt je způsoben kompetitivní inhibicí syntézy kyseliny tetrahydrofolové (syntéza NK)



Kys. p-aminobenzoová (PABA)

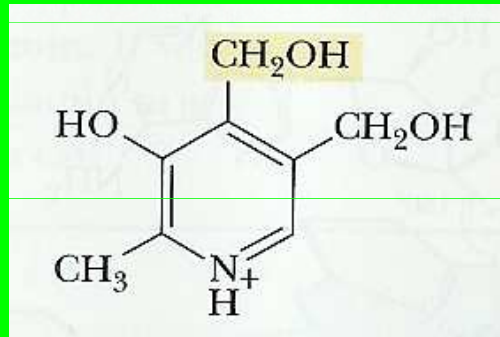


Sulfonamid – strukturální analog



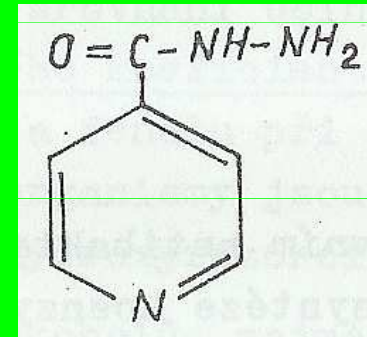
# Chemoterapeutika

- Esenciální látka

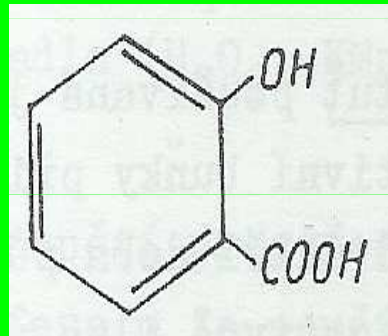


pyridoxin

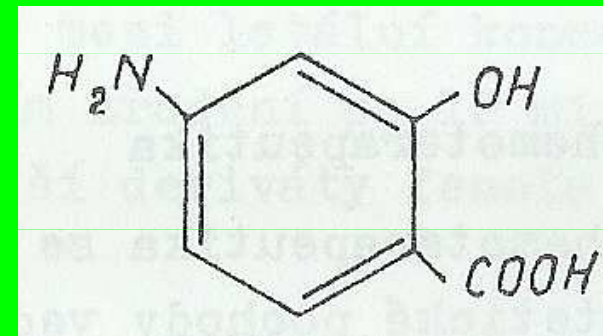
- Strukturální analog



isonikotinylhydrazid



Kys.salicylová



kys. p-aminosalicylová

# Antibiotika

- Antibiotika jsou organické látky produkované živou buňkou, které v malých koncentracích potlačují životní procesy partnera
- Jsou produkty sekundárního metabolismu
- Vyznačují se selektivní toxicitou – působí pouze na některé buňky - **spektrum účinnosti antibiotika**
- Antibiotika mají vliv mikrobistatický i mikrobicidní
- Jeden organizmus může produkovat několik antibiotik (*Bacillus subtilis* – 42)
- Jedno antibiotikum může být produkováno několika organizmy (peniciliny – *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichophyton*, *Streptomyces*,.....)



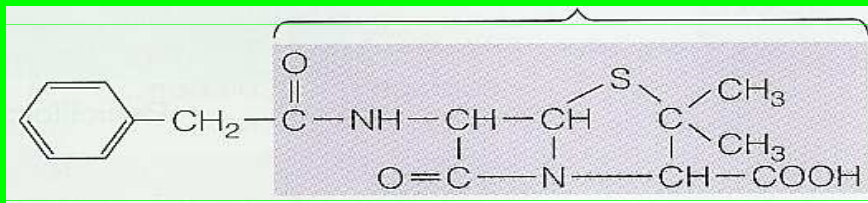
# Antibiotika

Rozdělení antibiotik podle mechanismu účinku

- **Inhibice syntézy buněčné stěny** (peniciliny, cefalosporiny, cykloserin, bacitracin, vankomycin, ...)
- **Inhibice funkce cytoplazmatické membrány** (gramicidin A, valinomycin, polymyxiny, ....)
- **Inhibice proteosyntézy** (chloramfenikol, erytromycin, linkomycin, tetracykliny, streptomycin, ...)
- **Inhibice syntézy a funkce nukleových kyselin** (rifampicin, kys.nalidixová, oxolinová, novobiocin, ...)

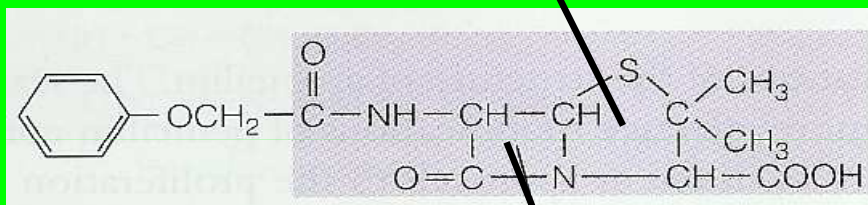
# Antibiotika - Inhibice syntézy buněčné stěny

- Přirozené peniciliny



Penicilin G

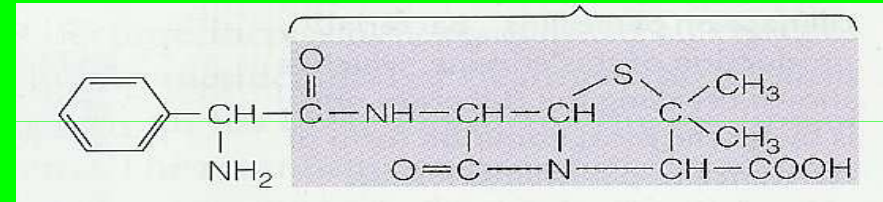
thiazolidinový kruh



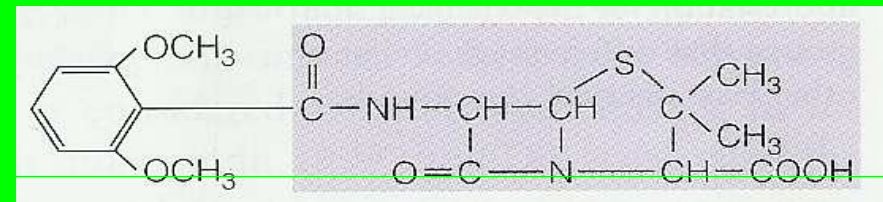
Penicilin V

$\beta$ -laktamový kruh

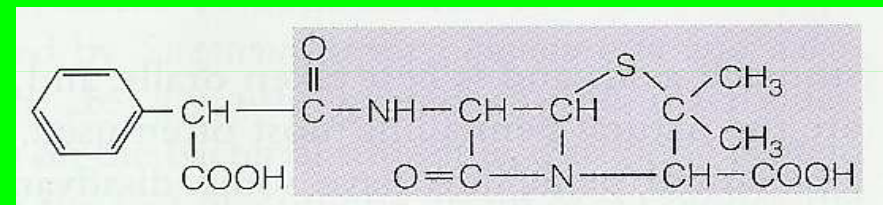
- Semisyntetické peniciliny



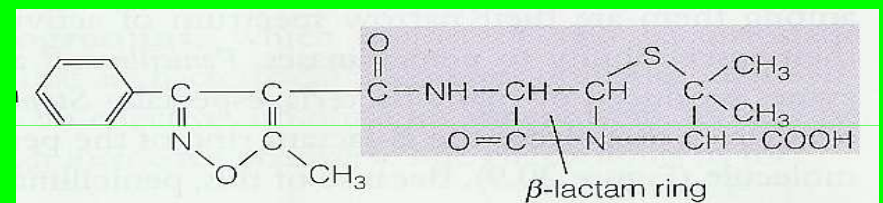
Ampicilin



Methicilin

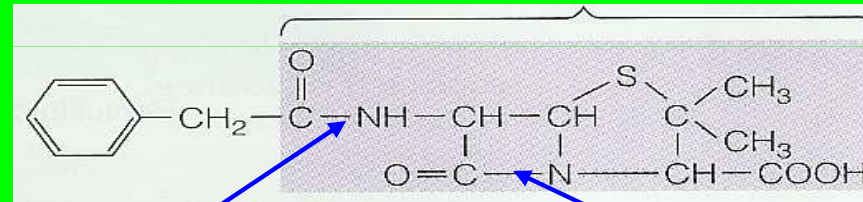


Cambericilin



Oxacilin

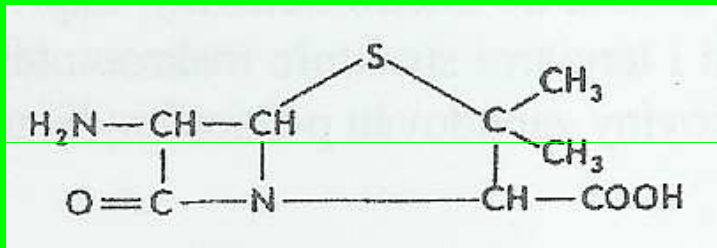
# Antibiotika - Inhibice syntézy buněčné stěny



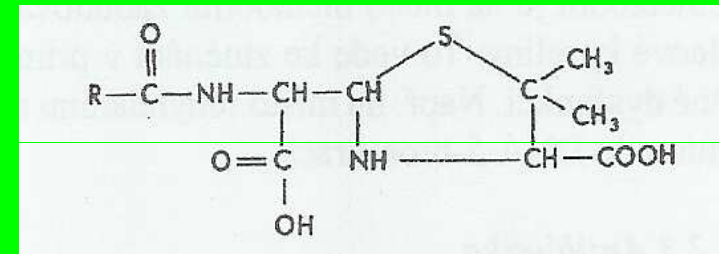
penicilin

amidáza

penicilináza

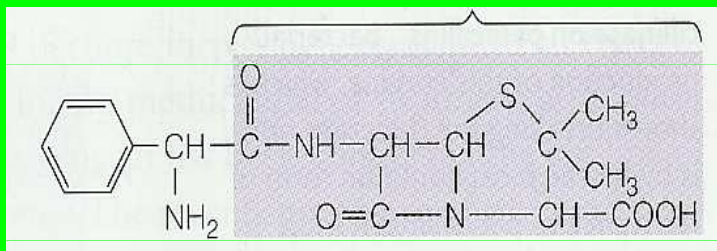


6-aminopenicilánová kys



penicilinová kys.

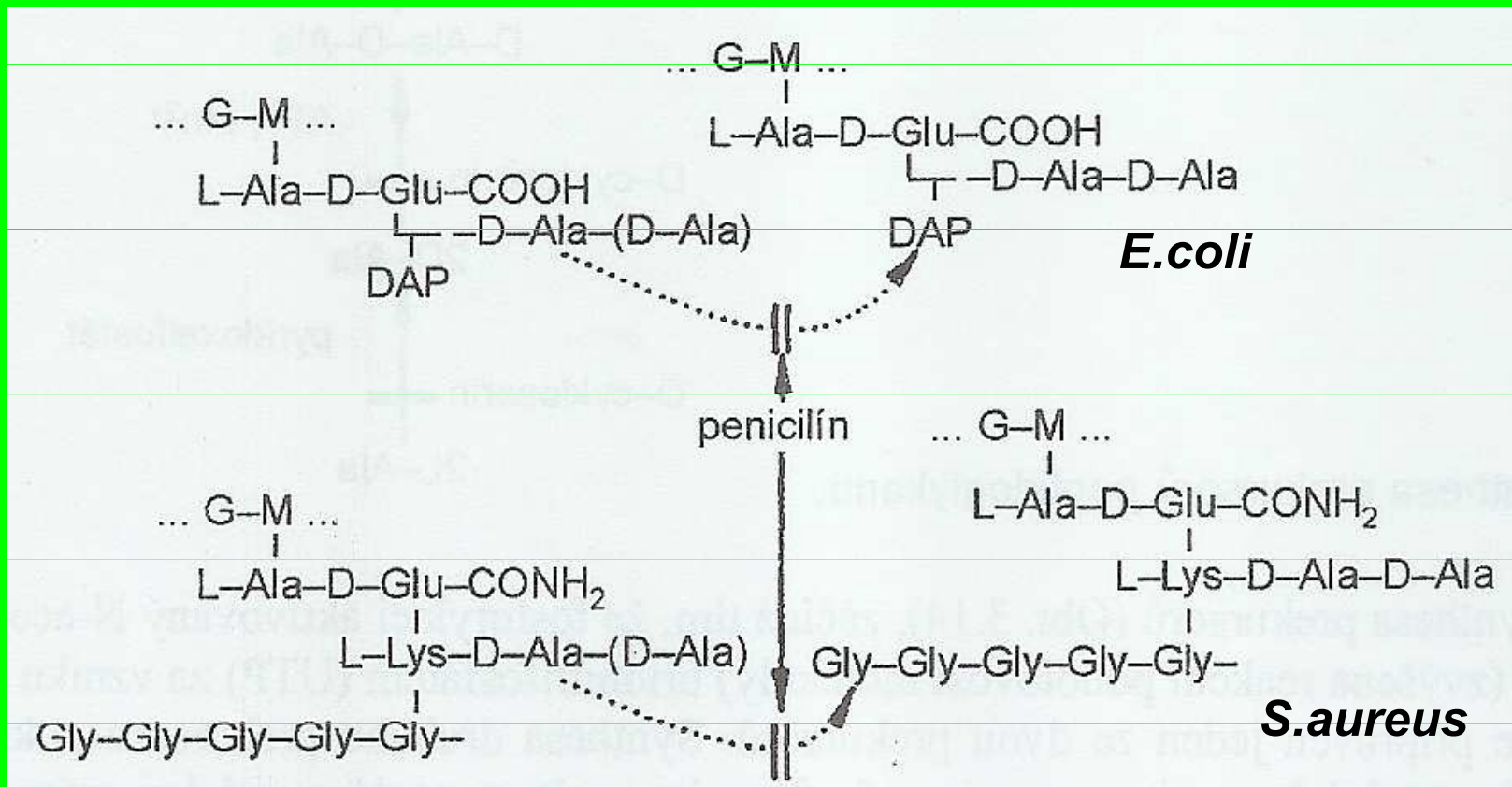
**Inaktivní**



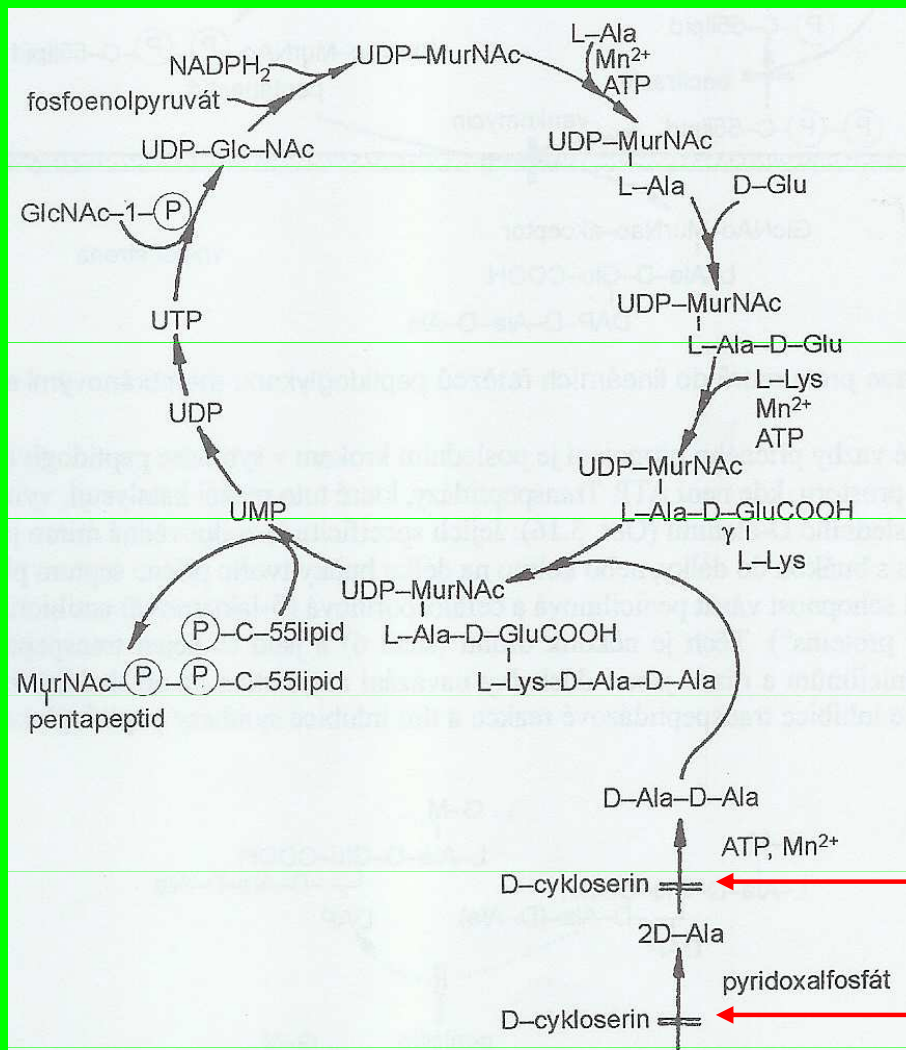
Ampicilin

# Antibiotika - Inhibice syntézy buněčné stěny

- Mechanismus účinku – vazba antibiotika  $\beta$ -laktamovým kruhem na transpeptidázu  $\rightarrow$  inhibice transpeptidázové reakce  $\rightarrow$  inhibice syntézy peptidoglykanu

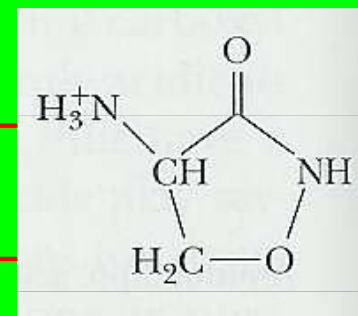


# Antibiotika - Inhibice syntézy buněčné stěny



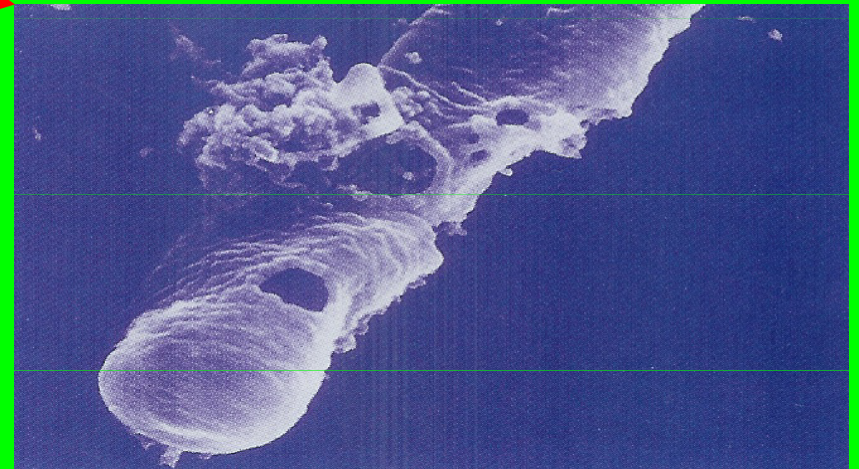
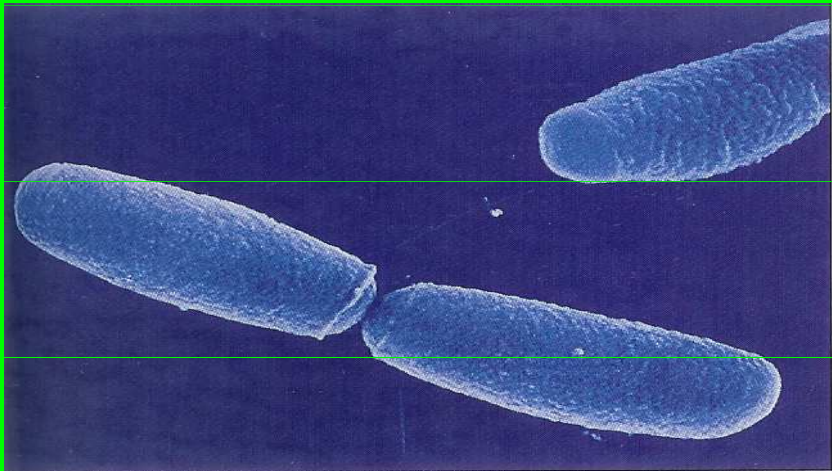
**2L-Ala**

- **Cykloserin**- blokuje syntézu základních stavebních kamenů buněčné stěny



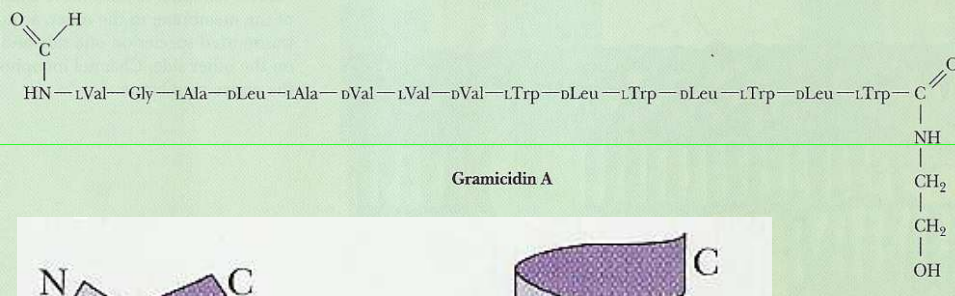
# Antibiotika - Inhibice syntézy buněčné stěny

- Výsledek působení

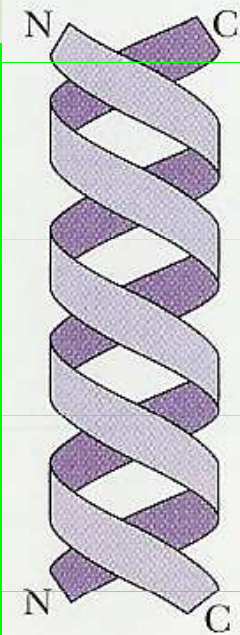


# Antibiotika - Inhibice funkce cytoplazmatické membrány

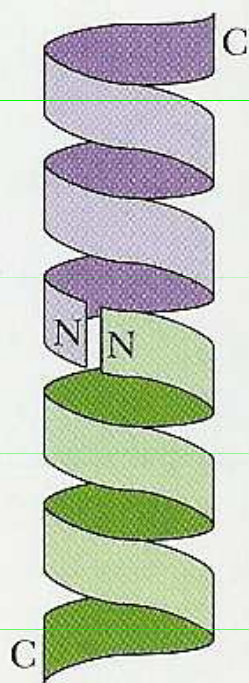
A – antibiotika tvořící v membráně póry – Gramicidin A



Gramicidin A



V anorganickém roztoku



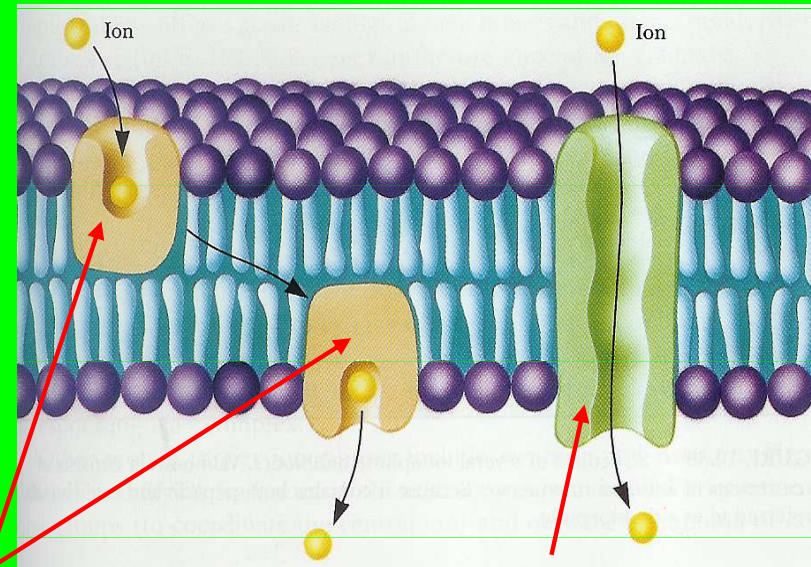
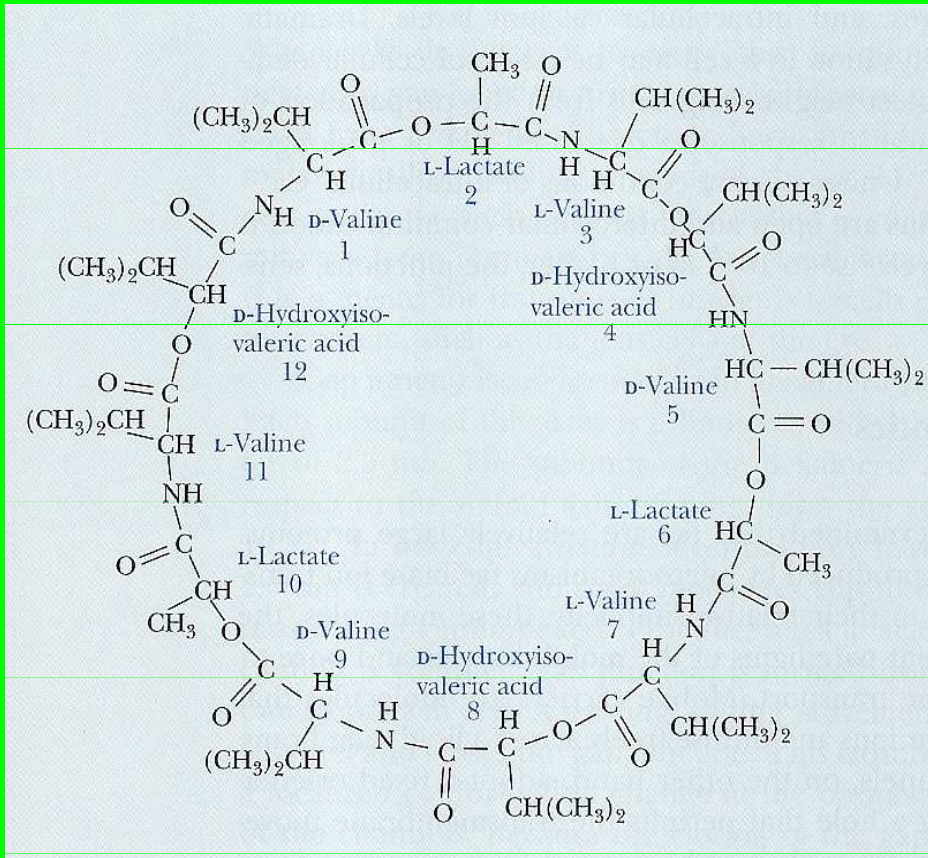
V lipidické vrstvě

- Vytváření nespecifických pórů, které vyrovnávají chemický a elektrický potenciál (→ oddělení respirace od tvorby ATP na membráně)

# Antibiotika - Inhibice funkce cytoplazmatické membrány

B – ionofory – Valinomycin

- Vyvolávají selektivní a nespecifickou propustnost pro  $K^+$  a tak nedovolují ustavení protonového gradientu



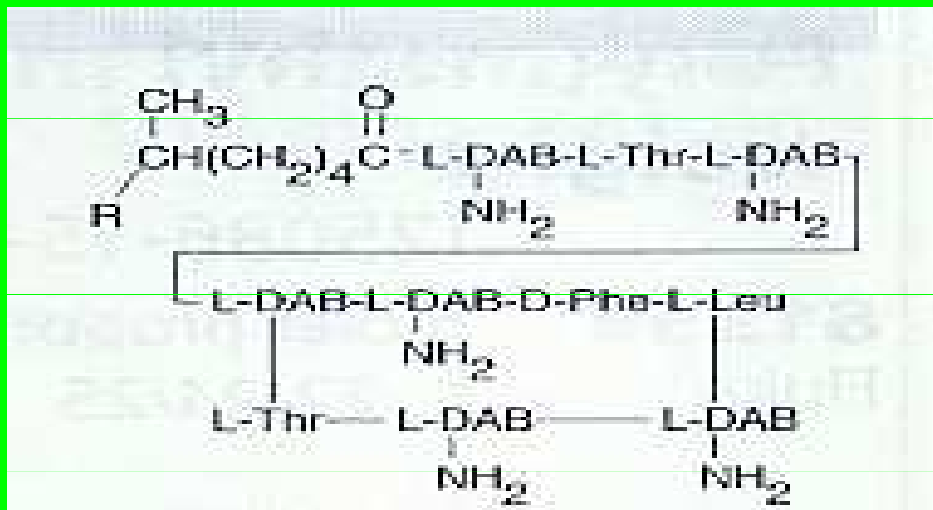
Přenašeč

Vytvořený kanál



# Antibiotika - Inhibice funkce cytoplazmatické membrány

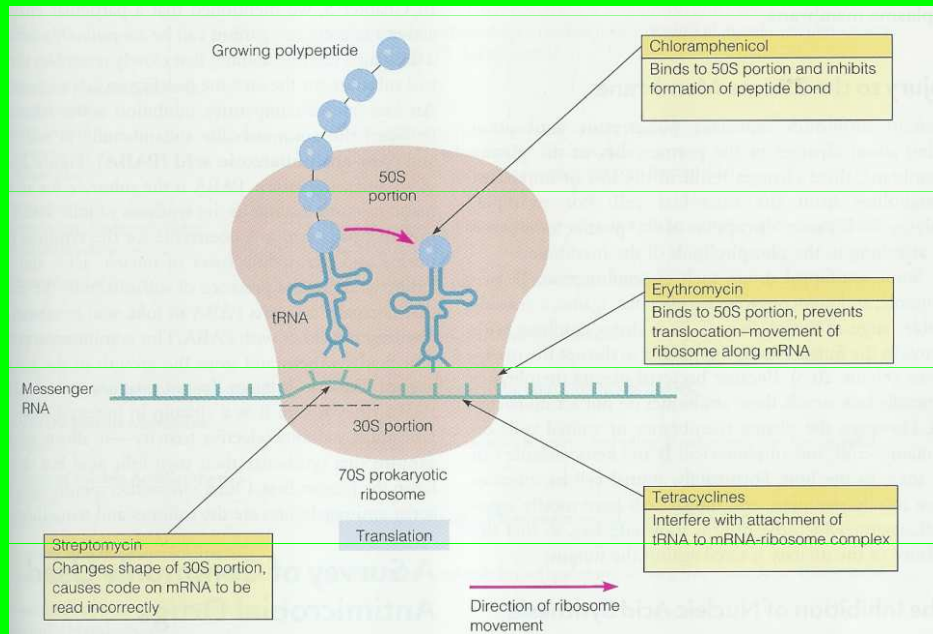
C – vyvolávající desorganizaci CM – Polymyxin B



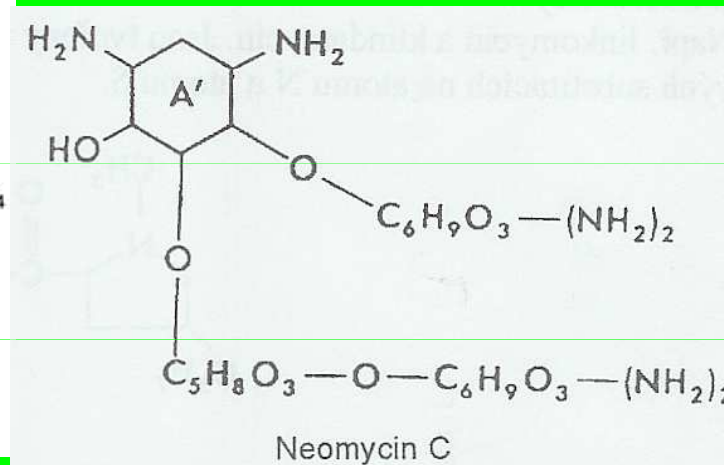
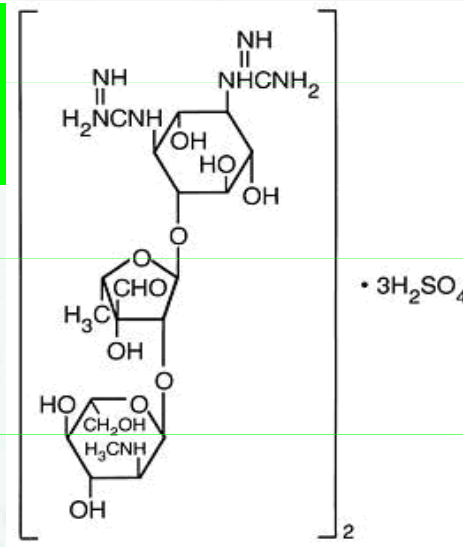
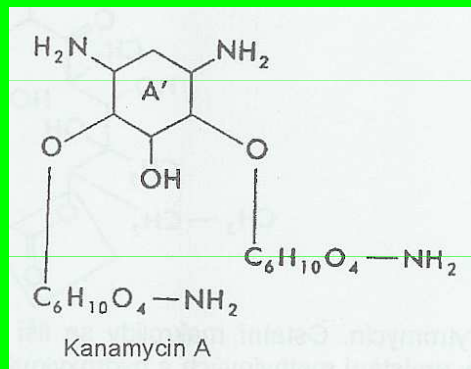
Pentapeptidový kruh s dlouhým postranním řetězcem (DAB – diaminomáselná kys. R – 6-metyloktanová kys.)

- V lipidické dvojvrstvě se vytvářejí tunely, kterými se narušuje semipermeabilita membrány → brání se vytváření gradientů

# Antibiotika - Inhibice syntézy bílkovin

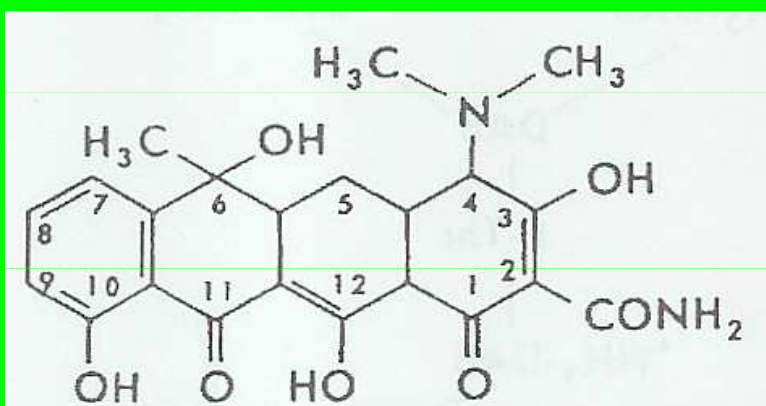


- Aminoglykozidy** – streptomycin, kanamycin, neomycin, gentamycin – irreverzibilní vazba na S12 protein malé podjednotky → její distorze



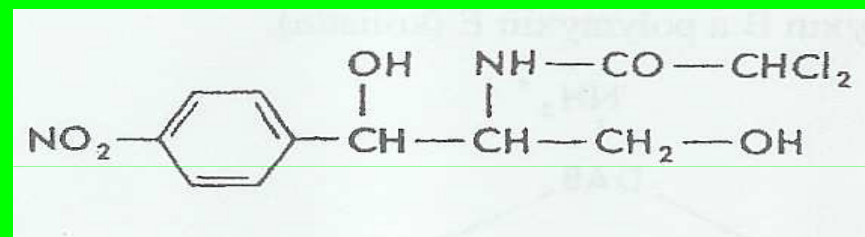
# Antibiotika - Inhibice syntézy bílkovin

- **Tetracykliny** – vazba na malou podjednotku – blokují místo A → zabránění vazbě aminoacyl-tRNA (reverzibilní vazba)



7-chlortetracyklin (aureomycin)  
5-hydroxytetracyklin (oxytetracyklin)

- **Chloramfenikol** – vazba na velkou podjednotku → inhibice peptidyltransferázy (přenos nascentního peptidu z místa P na novou aminoacyl-tRNA na místě A) – účinek je reverzibilní

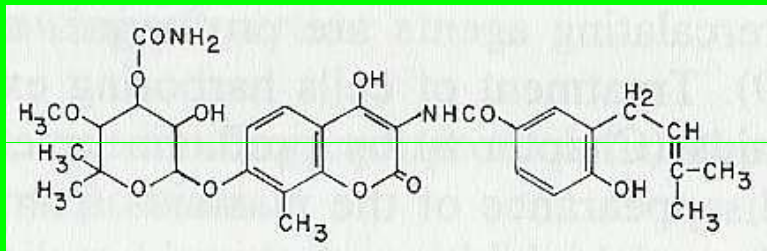


Vyrábí se i synteticky



# Antibiotika - Inhibice syntézy a funkce nukleových kyselin

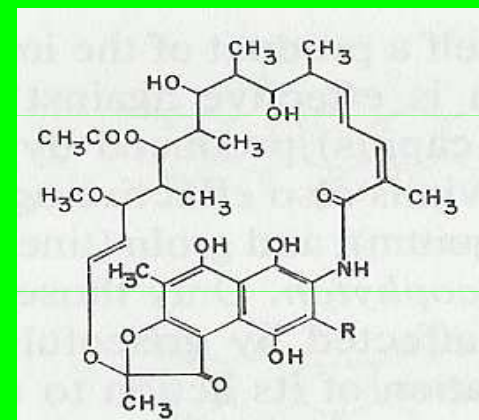
- **Inhibitory gyrázy** – zablokování syntézy DNA - novobiocin → vazba na β-podjednotku DNA gyrázy



novobiocin

- **Rifampicin (skupina rifampicinu)** – zablokování iniciace transkripce vazbou na β-podjednotku RNA polymerázy (neovlivňuje probíhající transkripci)

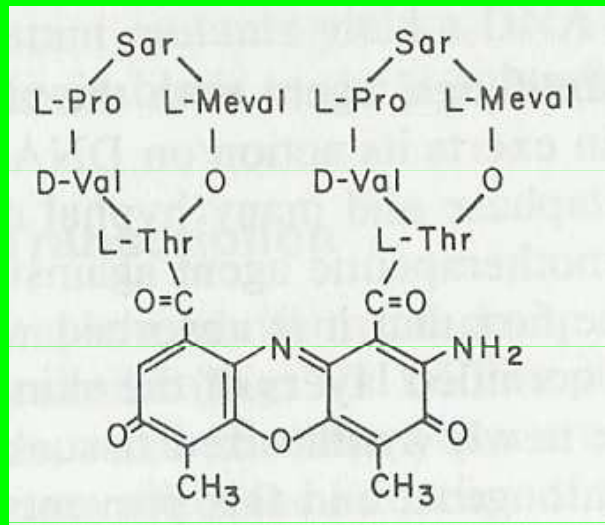
**Streptolydigin** - zablokování elongace tvazbou na β-podjednotku RNA polymerázy



rifampicin

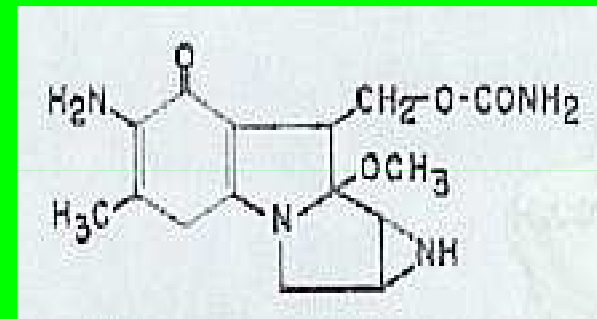
# Antibiotika - Inhibice syntézy a funkce nukleových kyselin

- **Aktinomycin D** – vytváří zkřížené vazby alkylací guaninových zbytků protějšího řetězce DNA → blokována transkripce i replikace
- **Mitomycin C** – spojuje navzájem oba řetězce DNA pevnou vazbou → blokována transkripce, replikace, rekombinace, reparace



aktinomycin D

(Sar – sarkozin, Meval – N-metylvalin)



mitomycin C