

Lékařská mikrobiologie pro ZDRL



Týden 2 – 3: Morfologie a fyziologie bakterií

O čem si dnes budeme povídat

Morfologie bakterií
(složení, tvary,
uspořádání, sporulace)

Fyziologie bakterií
(množení, metabolismus,
využívání substrátů)

Barvení (= pozorování
mikroba jako
morfologické jednotky)

Kultivace (= pozorování
růstových, tedy
fyziologických vlastností
mikroba)



Morfologie bakteriální buňky

- Z čeho se skládá každá bakterie
- Nepovinné složky bakteriální buňky
- Jaké jsou tvarové možnosti bakterie
- Jaké jsou možnosti uspořádání bakterií
- Zvláštní formy života bakterií – spory

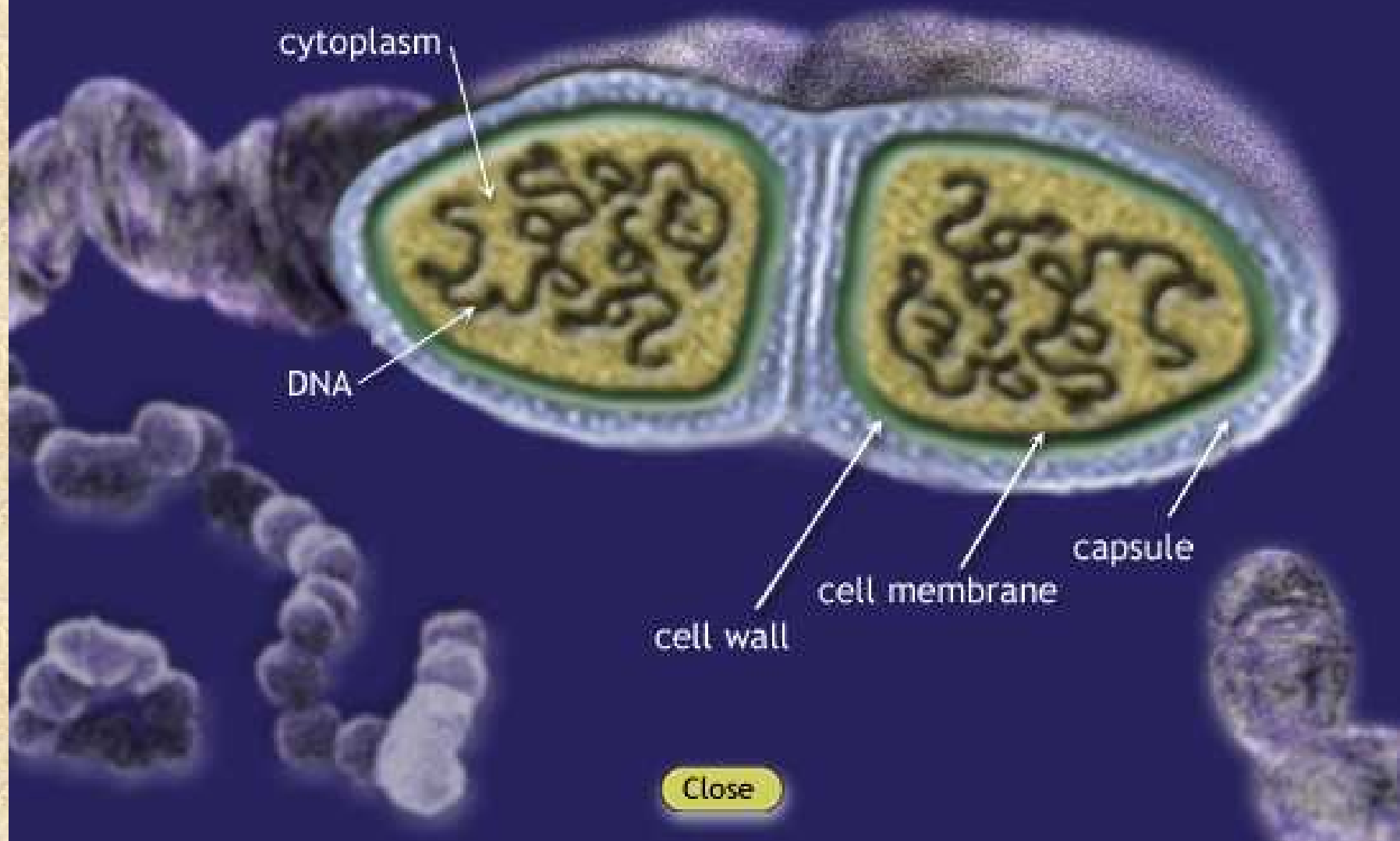


Z čeho se skládá bakteriální buňka

- Stočený chromozom coby předchůdce jádra
- Ribozomy, nutné k proteosyntéze
- Cytoplasma, prostředí uvnitř buňky
- Cytoplasmatická membrána
- Buněčná stěna
- Vakuoly, buněčné inkluze – dočasná záležitost
- Plasmidy
- Bičíky a fimbrie
- Pouzdro, biofilm

Buňky *Streptococcus pneumoniae*

Figure 4. Cross-section of *Streptococcus pneumoniae*





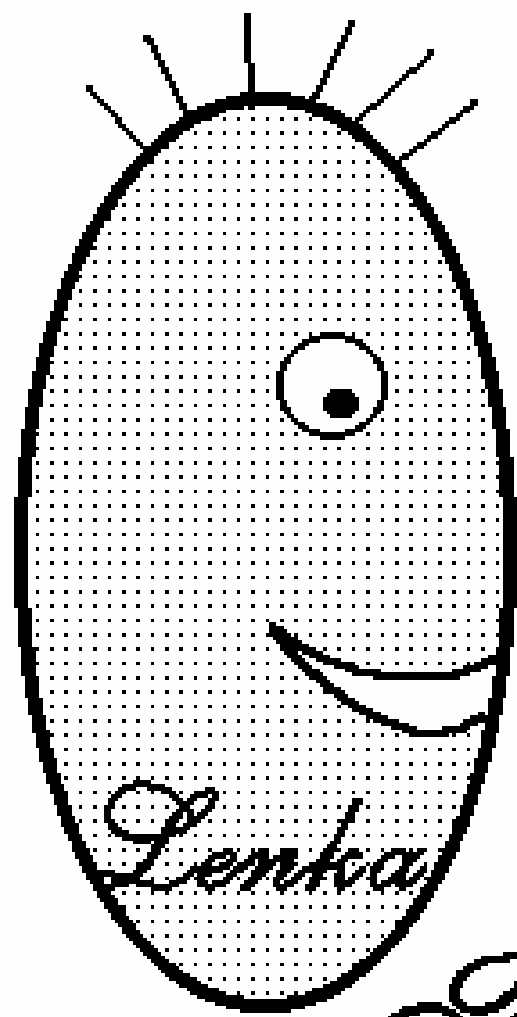
Chromozom a ribozomy

- Chromozom kruhového tvaru
- Ribozomy jiné než v eukaryotních buňkách
- Bakteriální „jádra“ nejsou viditelná v optickém mikroskopu
- Kromě chromozomu je genetická informace i v plasmidech (často virového původu)

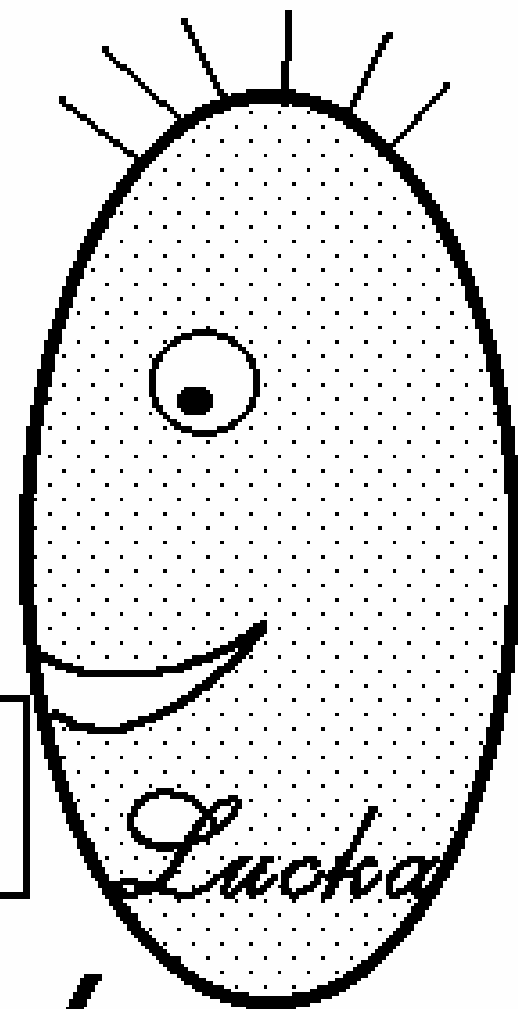


Jak může buňka přijít k plasmidu

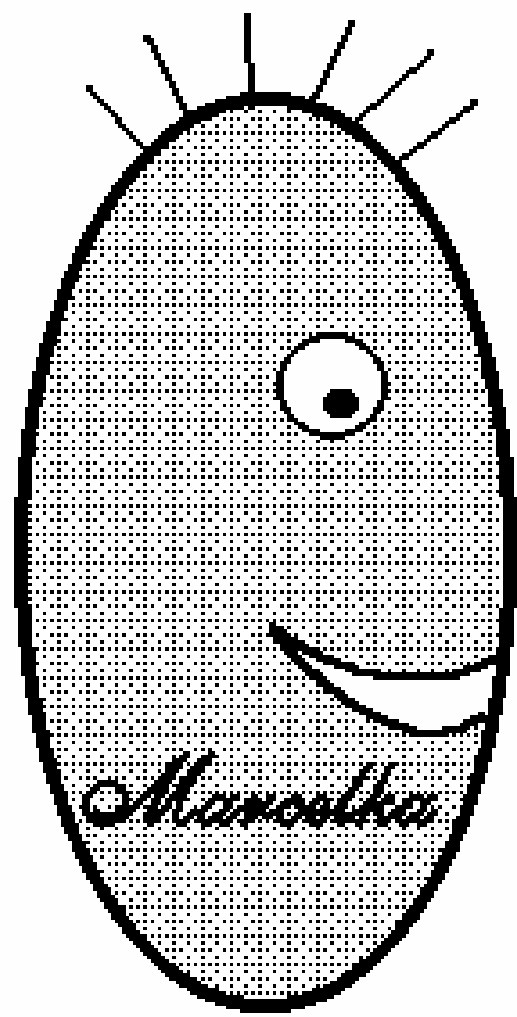
- Existují v zásadě tři způsoby: transdukce, transformace a konjugace
- Pro různé bakterie je typický ten nebo onen, anebo žádný způsob
- Je to i prakticky významné – plasmidy kódují třeba i rezistenci na antibiotika



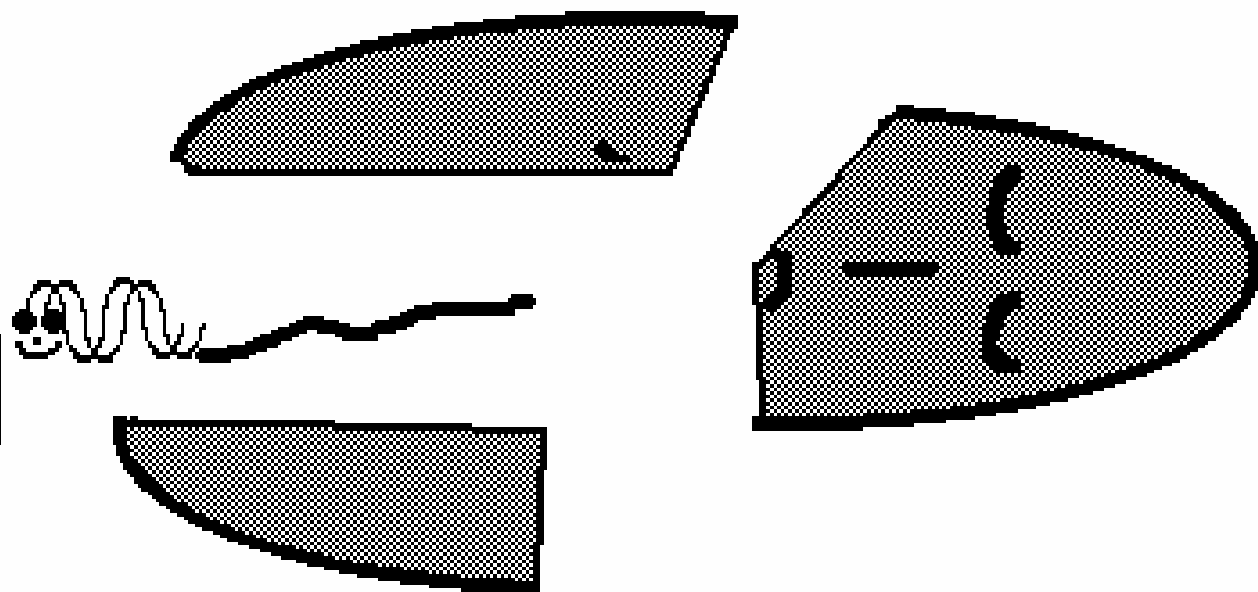
BAKTERIOFÁG
OD LENKY
PRO LUCKU



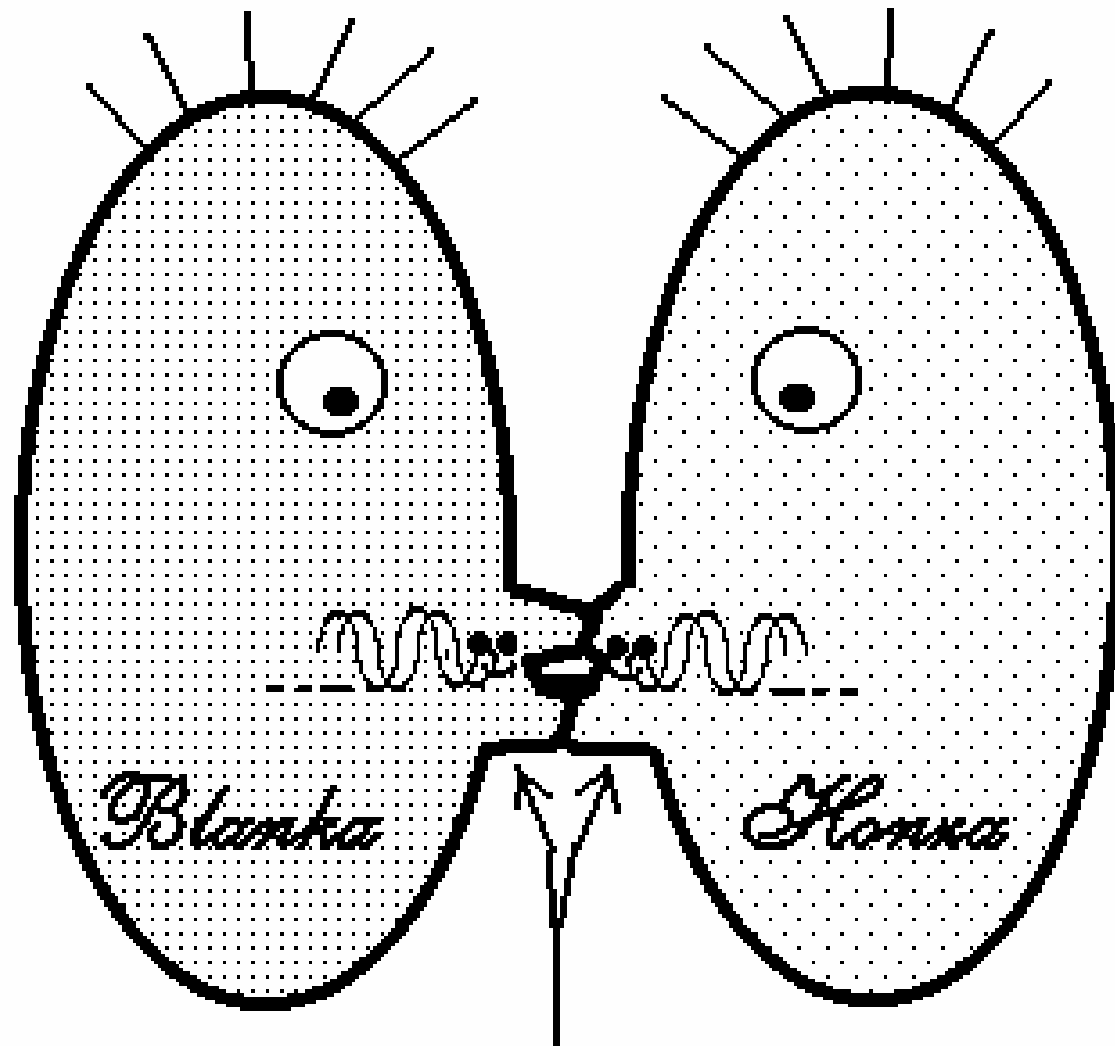
Transdukcce



rozpadající se bakterie, ze které se uvolňuje DNA



Transformace



*Kon-
jugace*

"SEX" PILLI (FIMBRIE)



Cytoplasma a cytoplasmatická membrána

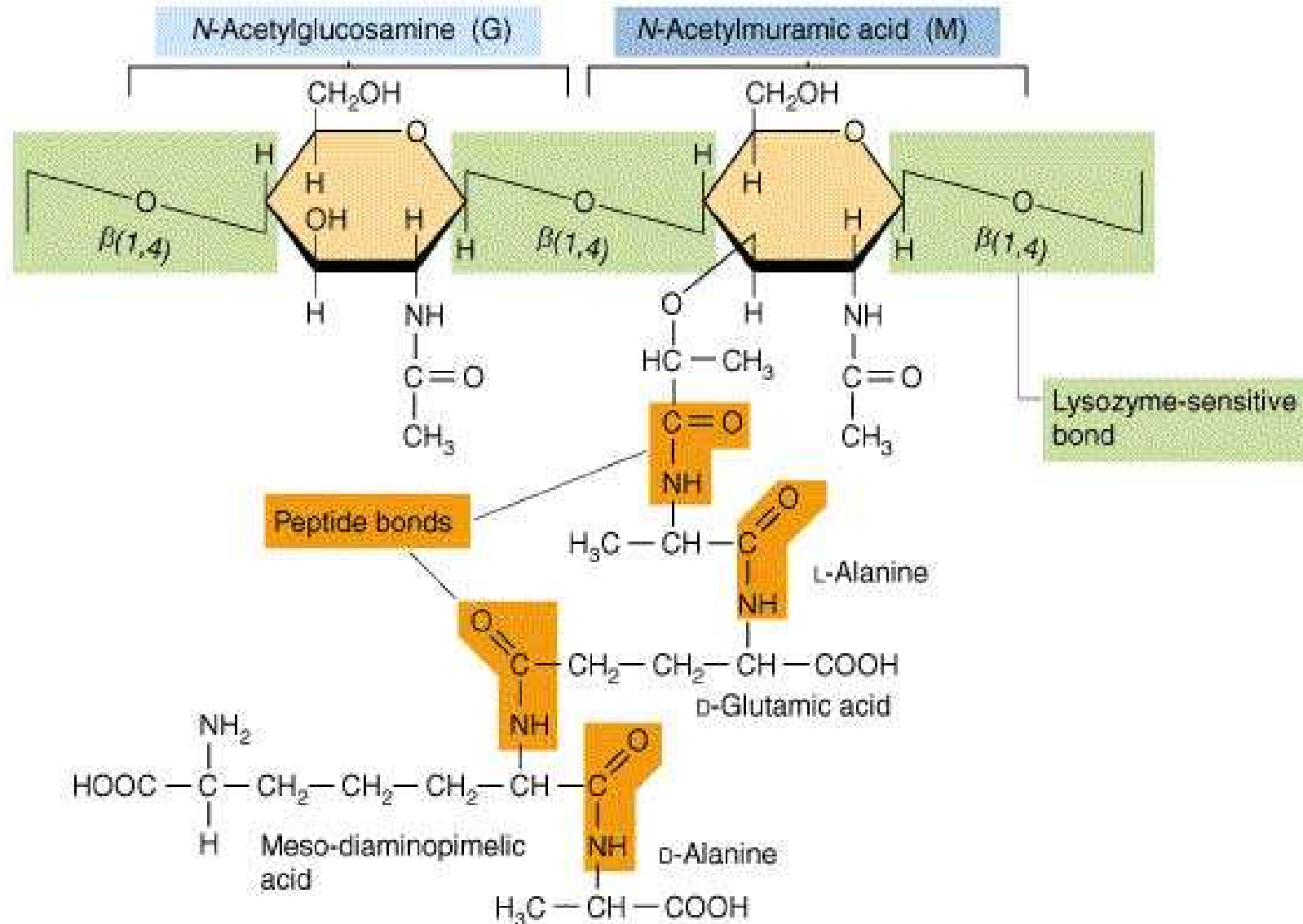
- Jak v cytoplasmě, tak i na cytoplasmatické membráně probíhá řada chemických procesů
- Na membráně především ty, které využívají rozdílu např. v koncentraci určitých iontů vně a uvnitř buňky
- Membrána zároveň chrání buňku před chemickými a jinými vlivy



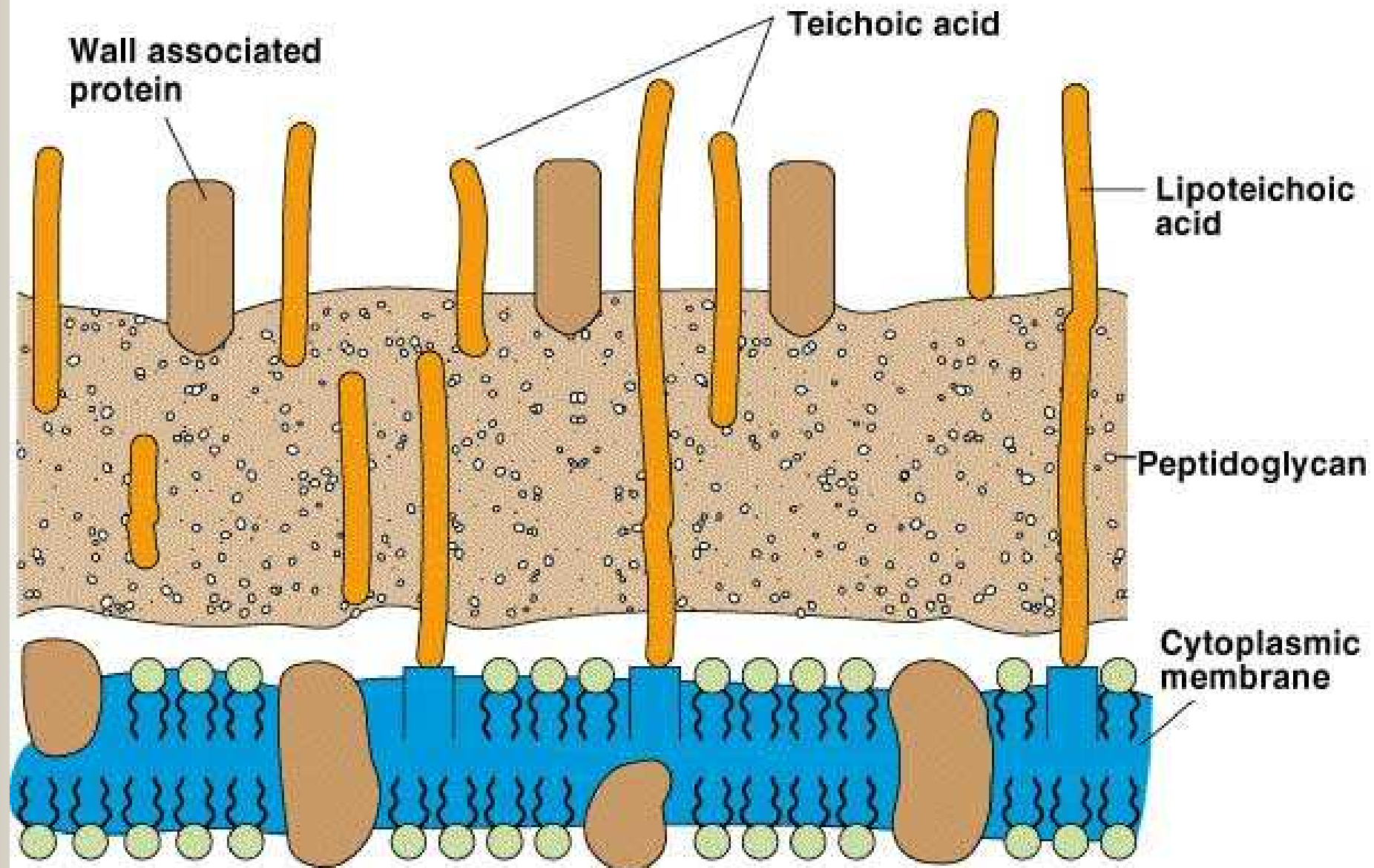
Buněčná stěna

- Grampozitivní bakterie mají buněčnou stěnu tlustou a jednoduchou
- Gramnegativní bakterie mají buněčnou stěnu tenkou a složitější
- Některé bakterie mají jinou buněčnou stěnu (mykobakteria – acidoresistentní, v buňce jsou mykolové kyseliny)
- Některé bakterie (mykoplasmata) buněčnou stěnu vůbec nemají

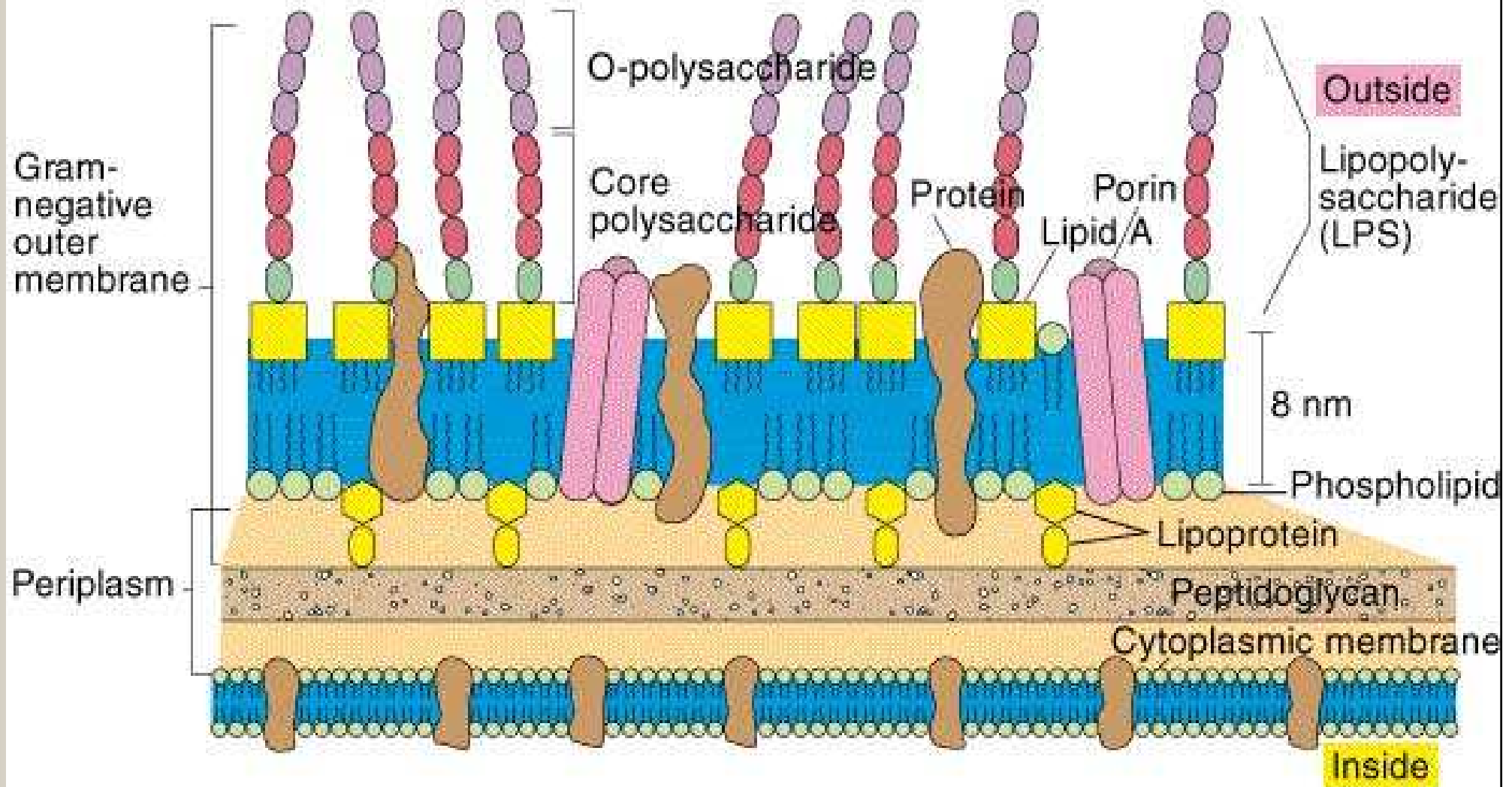
Základem každé buněčné stěny je peptidoglykan (murein)



Grampozitivní buněčná stěna



Gramnegativní buněčná stěna

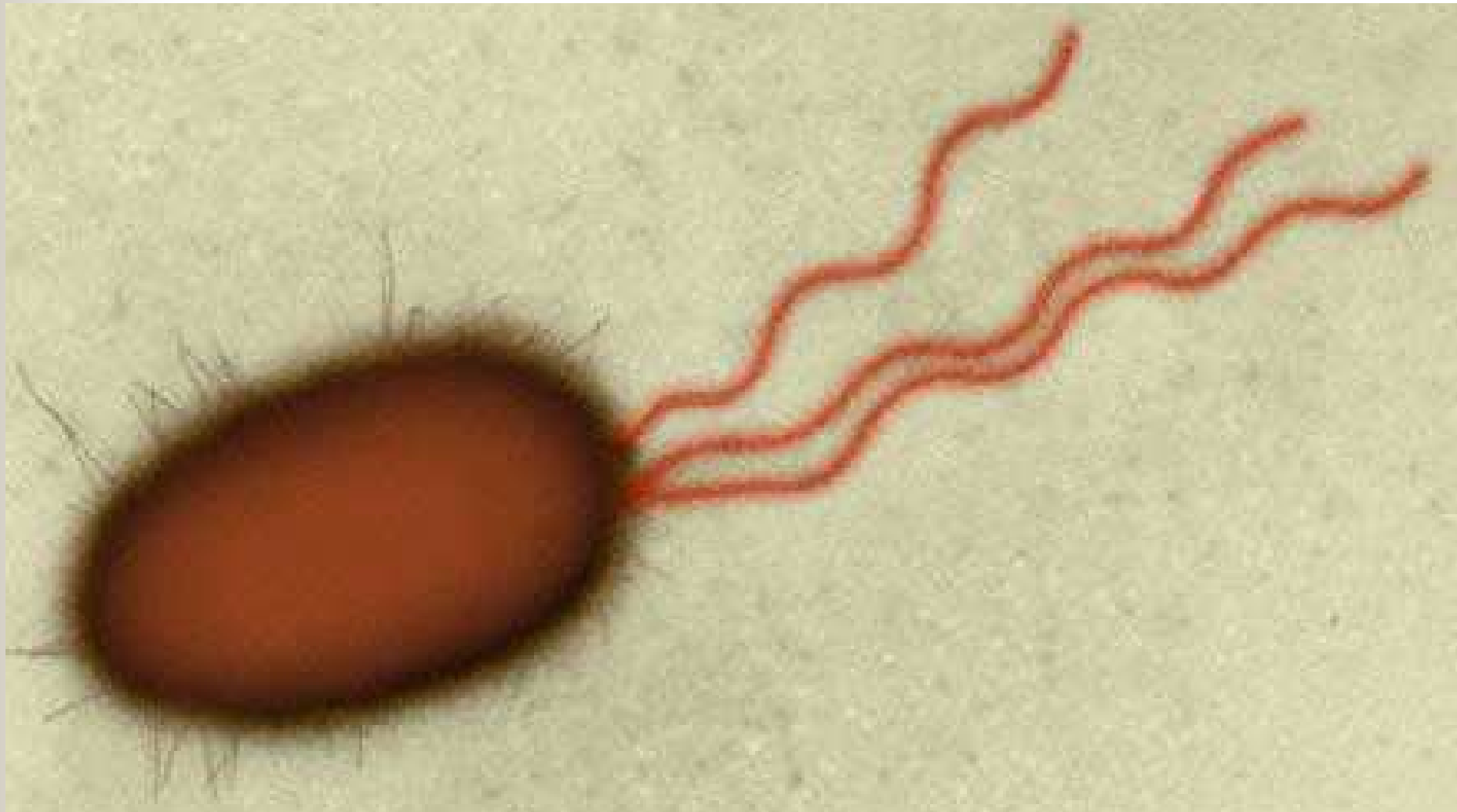




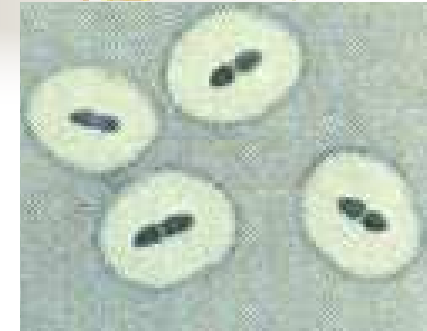
Fimbrie a bičíky

- Mnohé bakterie jsou schopny pohybu
- K pohybu slouží hlavně bičíky
- Fimbrie mohou vedle pohybu sloužit např. i k adhezi bakterie na povrch, ke konjugaci a podobně
- Bičíky bakterií jsou úplně jiné než bičíky eukaryotních organismů

Bakterie s bičíky (*Escherichia coli*)



Pouzdro a biofilm



- Pouzdro obklopuje jednotlivou bakterii, popř. dvojici. Není to už integrální součást bakteriální buňky, spíš nánosy molekul (většinou polysacharidů), které buňku chrání
- Biofilm je souvislá vrstva, vzniklá z bakterií, jejich pouzder a dalšího materiálu. Biofilm je mnohem odolnější než jednotlivá bakterie, žijící v tzv. planktonické formě

Stages of biofilm development

- Direct contact of a planktonic bacteria with a surface



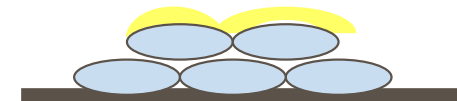
- Attachment to this surface



- Adhesion, growth, and aggregation of cells into microcolonies

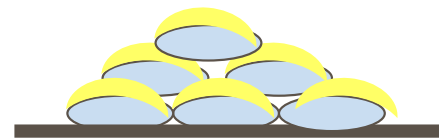


- Production of polymeric matrix



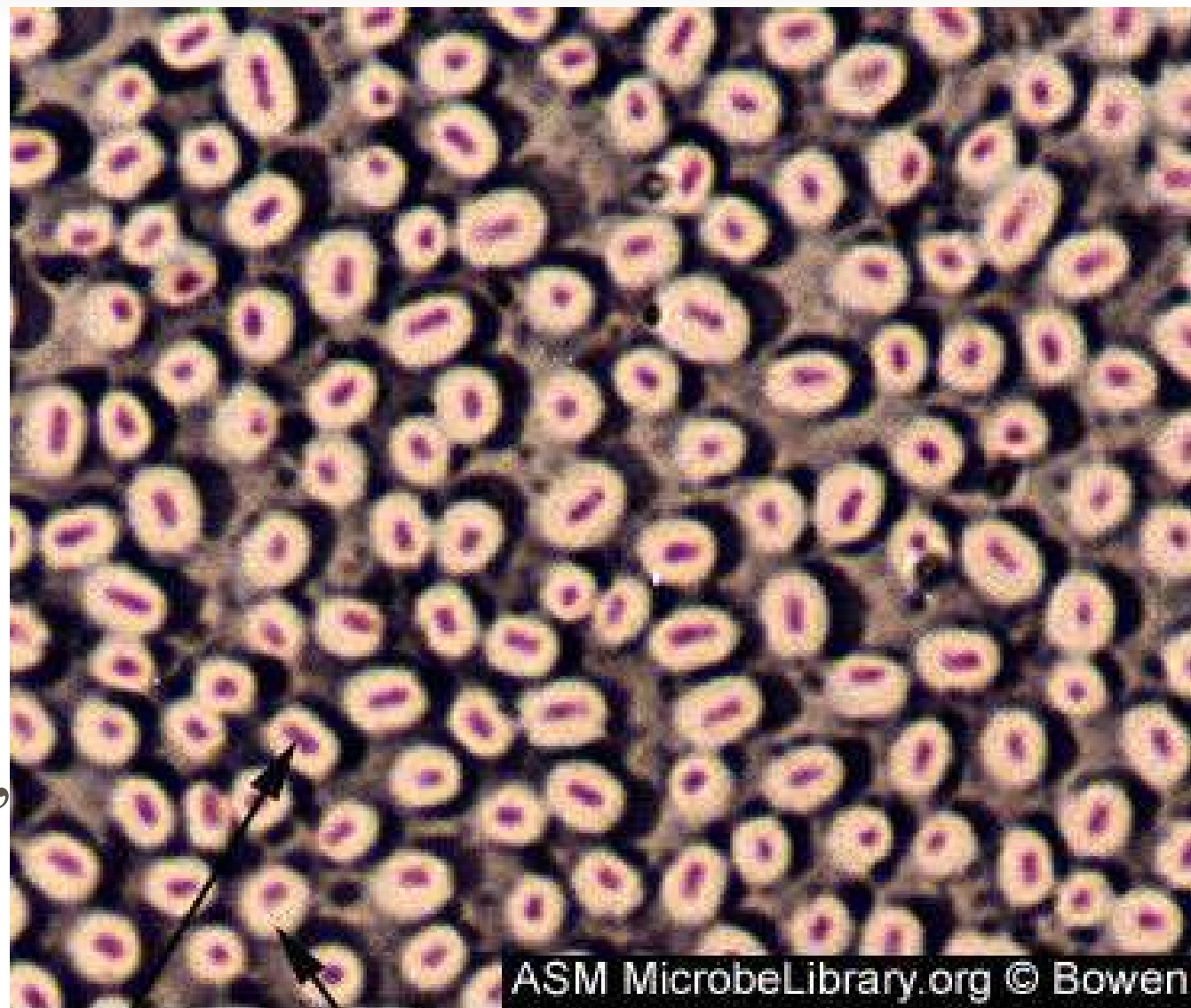
- Formation of three-dimensional structure known as biofilm

(Z prezentace dr. Černožorské)



Neobarvené pouzdro

- V barvení dle Burriho byly nabarveny bakterie na červenou a pozadí pak dobarveno tuší, tuší se pak pouzdro tam, kde se nic neobarvilo



Cell

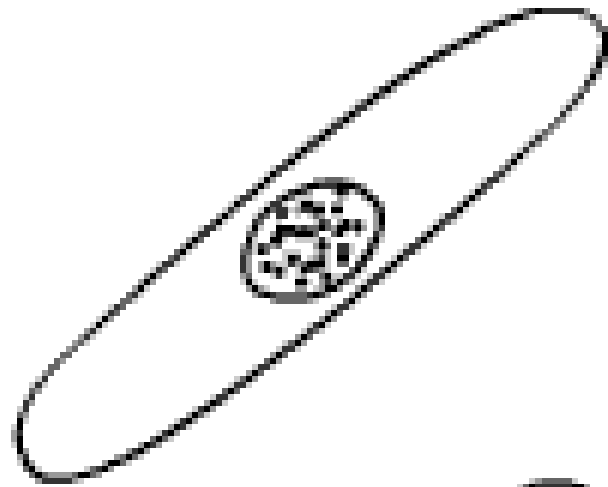
Capsule

ASM MicrobeLibrary.org © Bowen



Sporulace

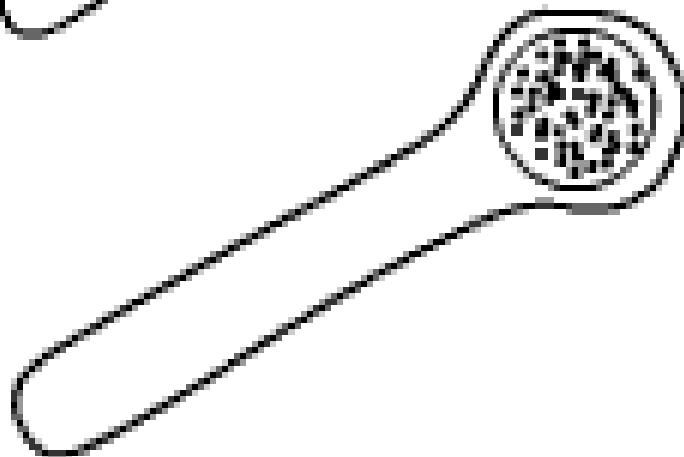
- Sporulace je něco jako zimní spánek, ale dovedený oproti zimnímu spánku zvířat k mnohem větší dokonalosti
- Spory přežijí velmi vysoké teploty, vyschnutí, desinfekci a podobně
- Spora vzniká jako **endospora**: buňka se rozdělí, ale neoddělí úplně: jedna část se mění ve sporu, která je zavzata do té druhé buňky
- *Nepletme si spory bakterií a spory hub!*



ex : *B. Subtilis*
B. Cereus
B. Thuringiensis
B. Anthracis

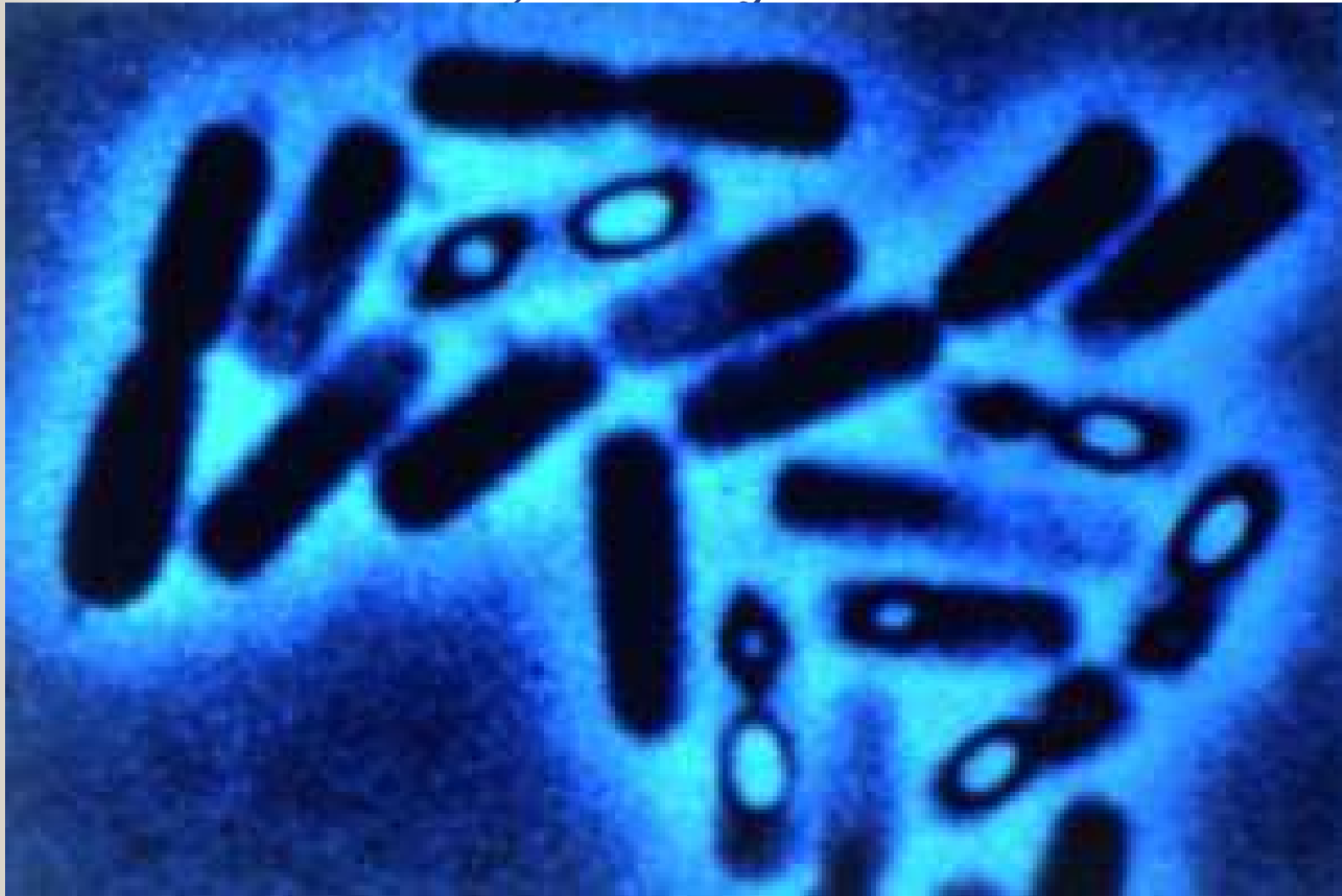


ex : *B. Polycyma* (fixe le N₂)



ex : *B. Pasteurii* (dégrade l'Urée)

Spory jsou biochemicky
inaktivní, samy o sobě se nebarví

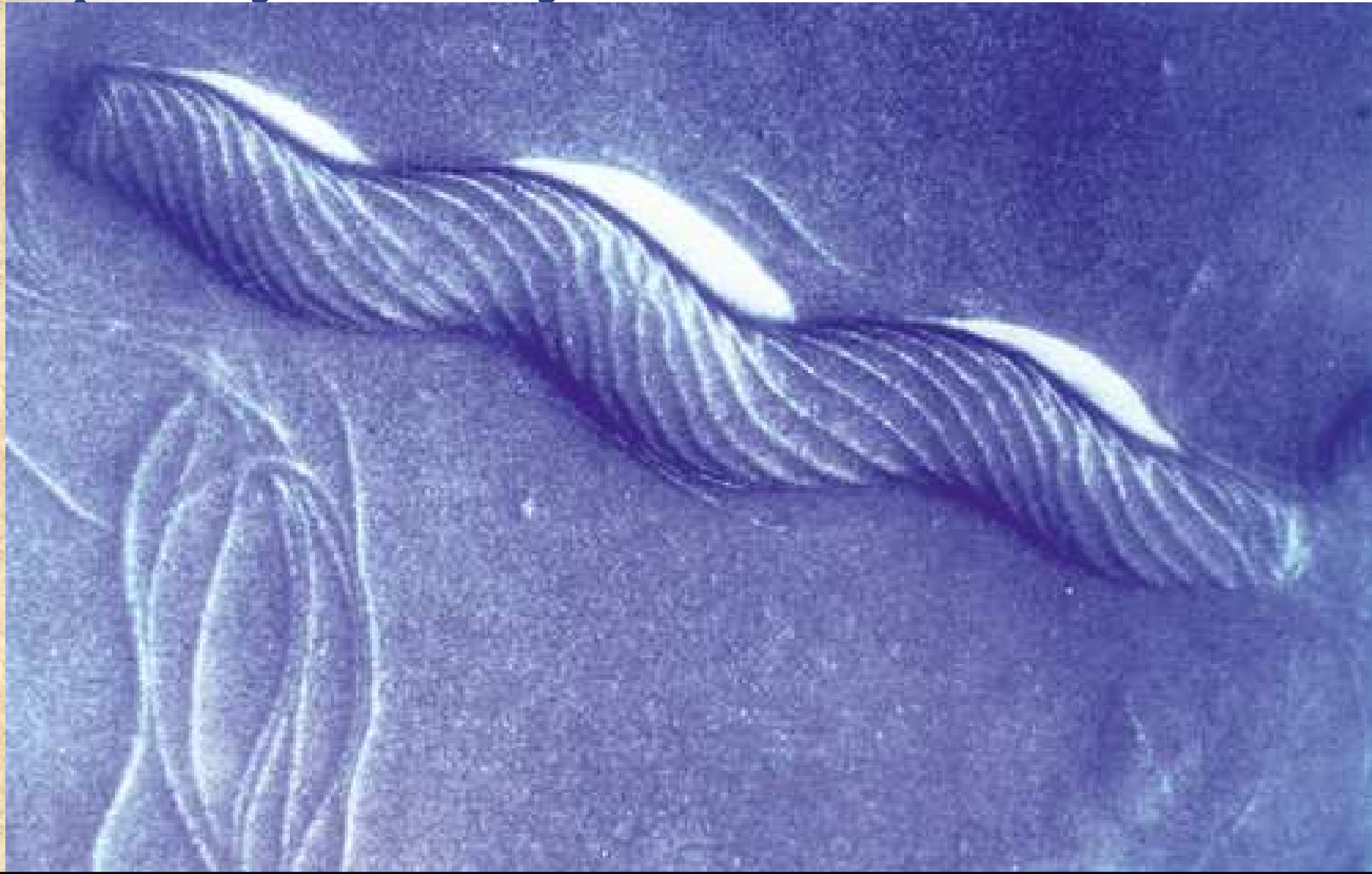




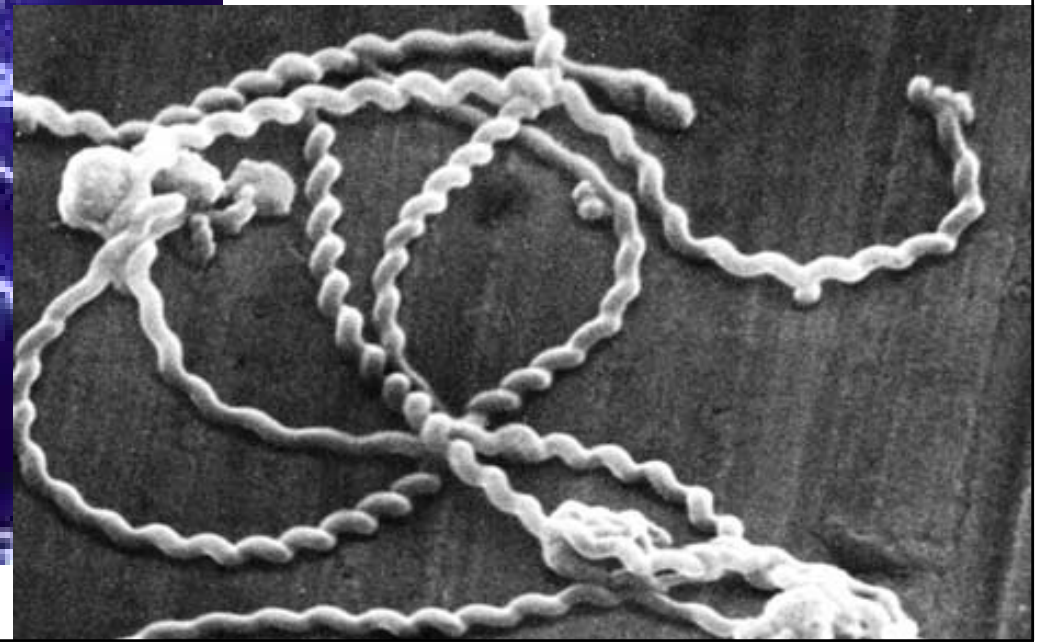
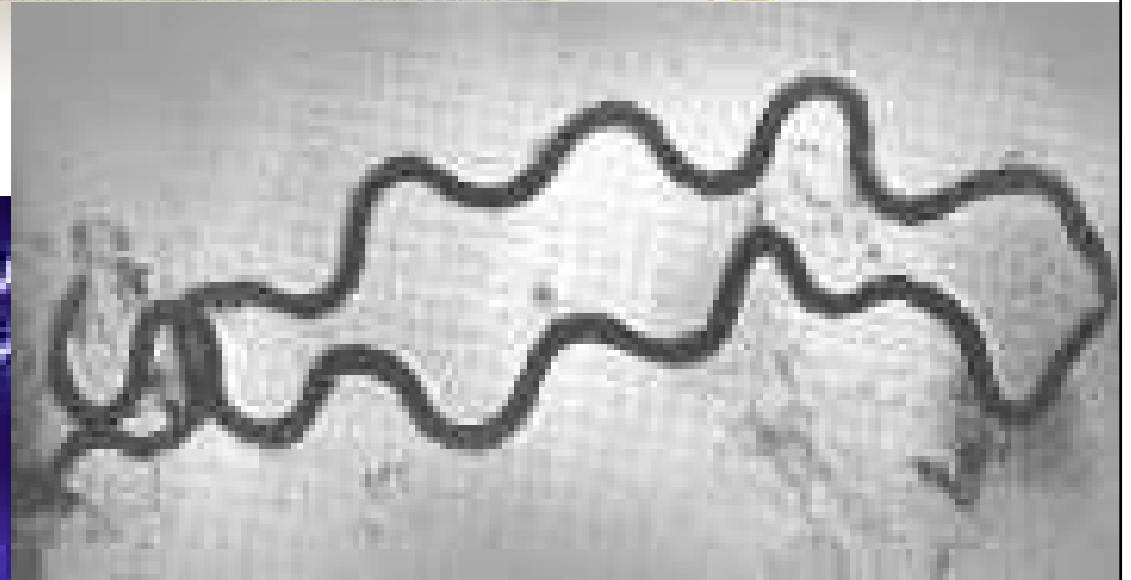
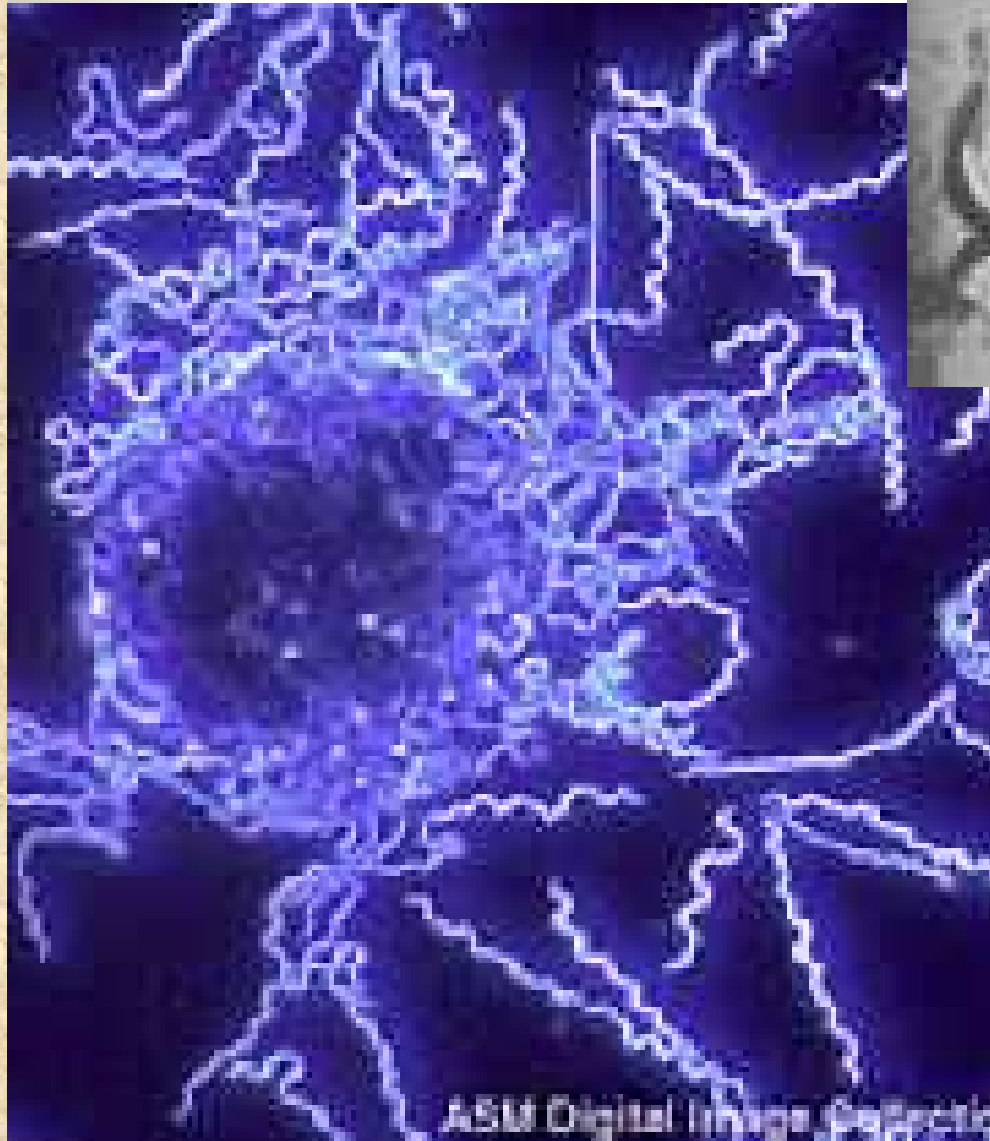
Tvarové možnosti bakterií

- Koky (kulaté, protáhlé, ploché)
- Kokotyčinky
- Tyčinky (rovné, zahnuté, s oblými či špičatými konci, tlusté, tenké)
- Vlákňité bakterie (zvláštní případ tyčinek)
- Spirální bakterie – spirochety
- Beztvaré bakterie, např. mykoplasmata

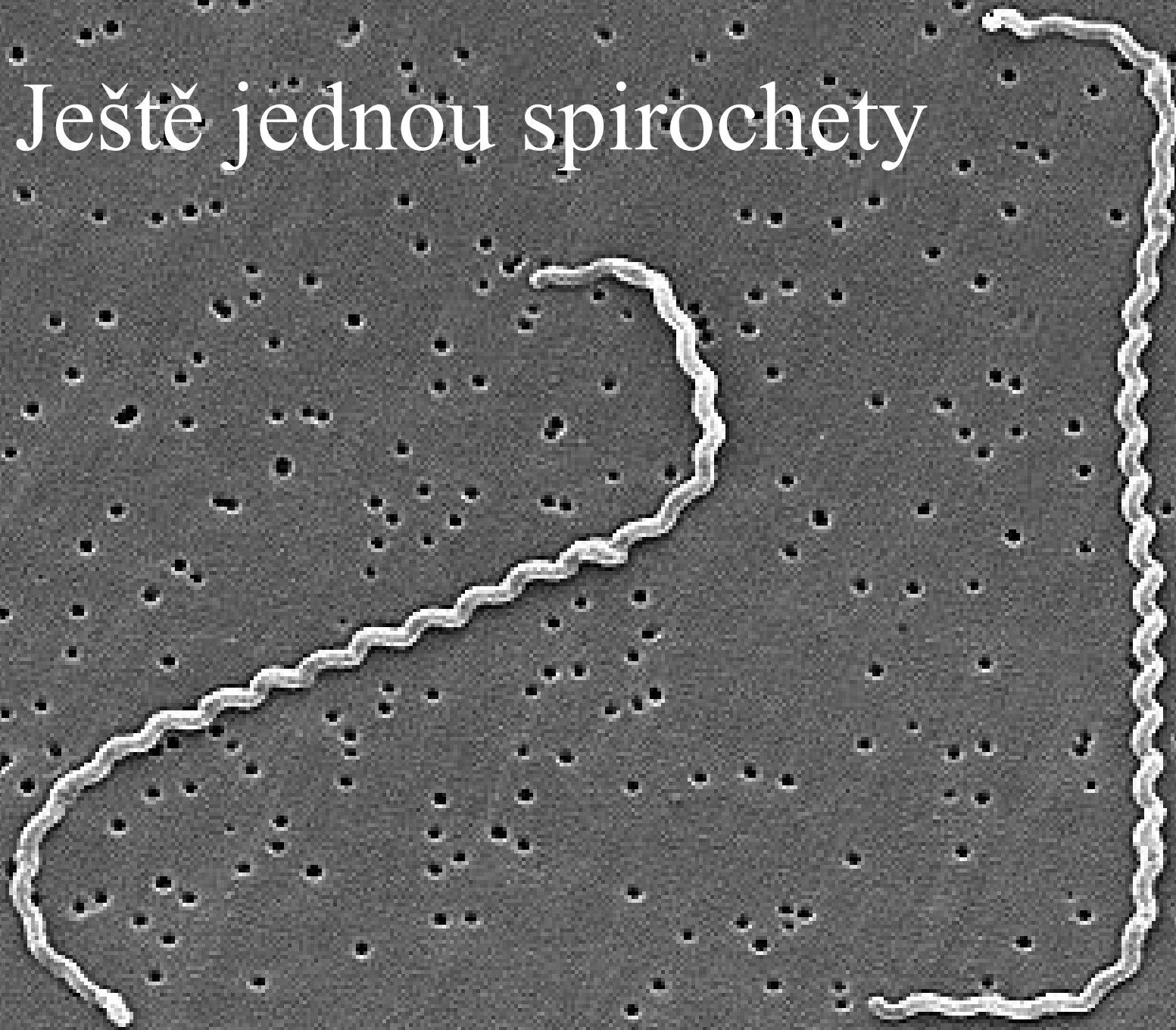
Zprohýbaná tyčinka – helikobakter



Spirochety

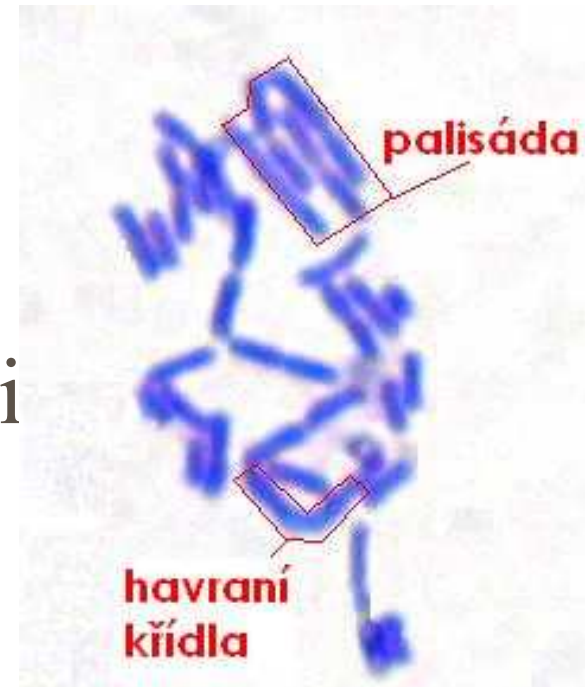


Ještě jednou spirochety

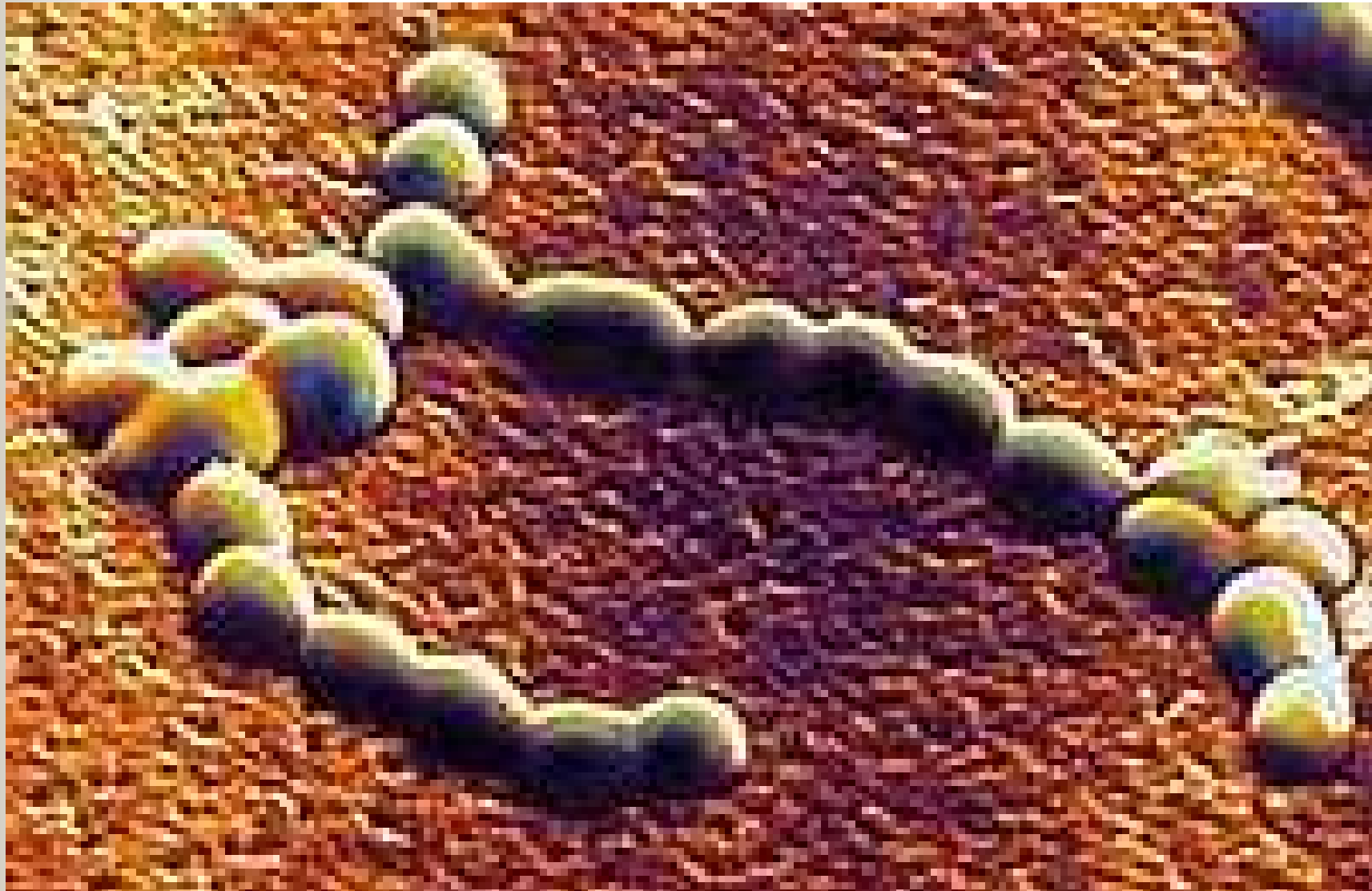


Možnosti uspořádání bakterií

- Jednotlivě
- Dvojice
- Čtveřice, skupiny po osmi
- Shluky
- Řetízky
- U tyčinek: palisády (|||||), řetízky (-----)



Koky v řetízcích (elektronová
mikrofotografie *Enterococcus* sp.)

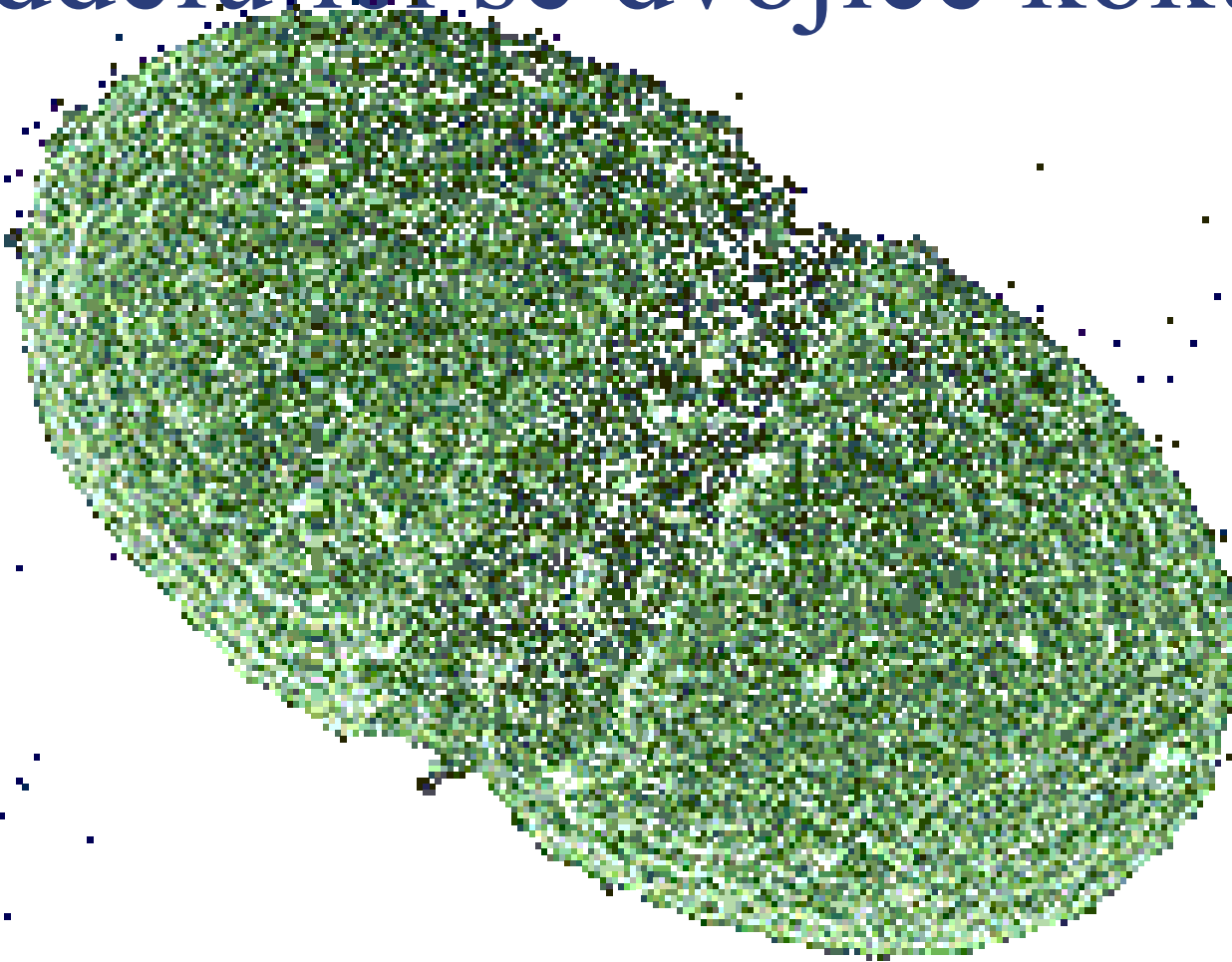


©Dr. med. T. Pietzcker, Ulm

Řetízky v Gramově barvení



Oddělující se dvojice koků





Mikroskopie bakterií

- Bakterie jsou dobře viditelné v elektronovém mikroskopu, v praxi se nevyužívá
- V optickém mikroskopu jsou viditelné mizerně. Lépe je vidíme pokud se pohybují, anebo pokud je fixujeme a nějakým způsobem obarvíme
- K jednoduchému barvení můžeme použít kde co, například methylenovou modř

Gramovo barvení

	Gram +	Gram -
Krystalová violet' 30 s	Obarví se na fialovo	Pevně se obarví na fialovo
Lugol 30 s	Barva se zesílí	Prakticky se nic nestane
Alkohol 15 s	Nestačí se obarvit	Odbarví se
Safranin 60 s	Vše dosud neobarvené se obarví na červeno	

Směs G+ a G- bakterií





Další barvicí metody

- Barvení podle Giemsy – spíše na parazity, na bakterie je příliš „brutální“
- Barvení dle Ziehl-Neelsena na acidorezistentní bakterie
- Barvení pouzder dle Burriho
- Barvení fluorescenčními barvivy

Fluorescenční barvení

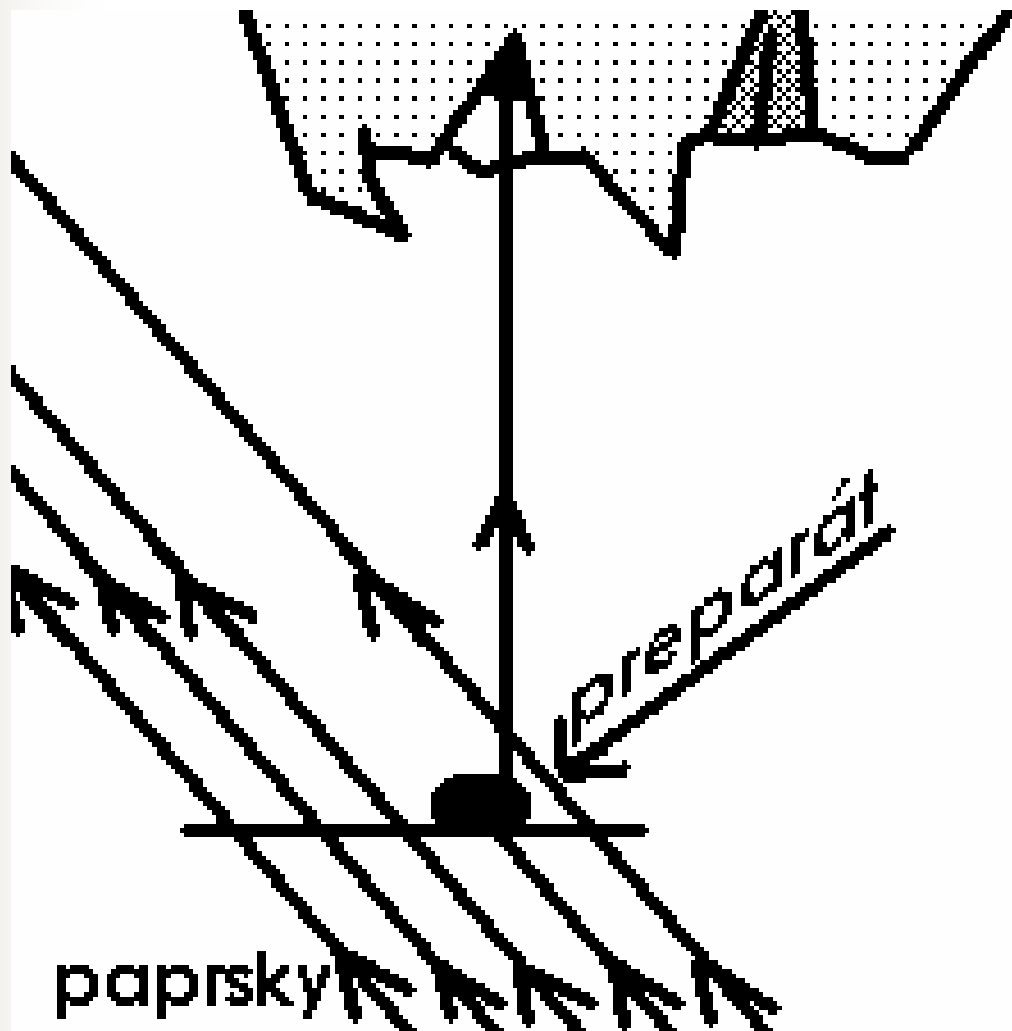




Speciální mikroskopické techniky

- Mikroskopie v zástínu – používá se u světlolomných objektů (např. spirochet). Na objekt dopadají paprsky zešikma a do oka dopadnou POUZE ty, které se na něm zlomí
 - Anglicky se jí říká „darkfield microscopy“ – mikroskopie v temném poli. Pozadí je tmavé, bakterie světlá
- Mikroskopie ve fázovém kontrastu využívá fázový posun paprsku

Zástinová mikroskopie





Fyziologie bakterií

- Tak jako každý organismus, i bakterie mají svůj katabolismus a anabolismus
- Katabolismus může být trojí:
 - Fermentace – štěpení bez potřeby kyslíku. Málo energeticky výhodný, ale nepotřebuje kyslík
 - Aerobní respirace – z mála živin se získá hodně energie, je ale nutný kyslík
 - Anaerobní respirace – jiný akceptor elektronů



Množení bakterií

- Každá bakterie má svou generační dobu
- Za jednu generační dobu jsou z jedné dvě, za desetinásobek je z jedné 1024 bakterií (teoreticky) a podobně
- Ideální množení by existovalo pouze kdybychom neustále přidávali živiny a popř. kyslík a odebírali odpadní produkty



Reálná růstová křivka

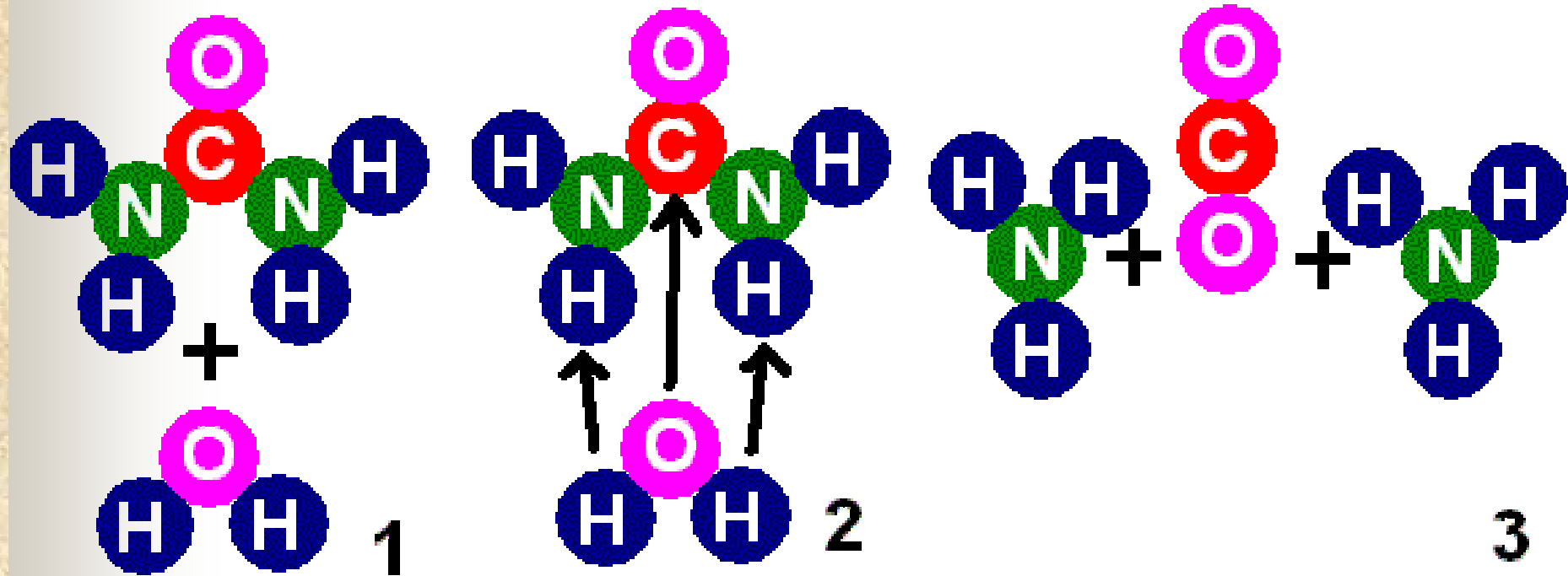
- Fáze latence – bakterie jsme nechali kultivovat, ale ještě jich nepřibývá
- Fáze exponenciální – růst se zrychluje
- Fáze stacionární – rostou pořád stejně rychle
- Zpomalení a zastavení růstu – došly živiny, je příliš mnoho odpadů, nebo bakterie samy regulují svůj počet pomocí „quorum sensingu“



Substráty

- Pro své energetické potřeby využívají bakterie různé substráty
- Každá bakterie má jinou škálu substrátů, jinou škálu biochemických reakcí, které provozuje
- Tyto rozdíly lze velice dobře využívat při diagnostice bakterií

Příklad – ureázová aktivita helikobaktera





Podmínky

- Pro kultivaci bakterií jsou nutné určité podmínky
- Nestačí takové, aby bakterie přežívala. Musí být i schopna se množit
- Podmínky musí být splněny, co se týče teploty, pH, koncentrace solí a mnoha dalších věcí
- Nepůsobí přitom jednotlivě, kombinují se

Když se mění určité faktory





Kultivace bakterií obecně

- Bakteriím musíme připravit přijatelné vnější podmínky – teplotu, vlhkost apod.
- Aerobní a fakultativně anaerobní bakterie můžeme pěstovat za normální atmosféry
- Striktně anaerobní bakterie vyžadují atmosféru bez kyslíku
- Používáme různá kultivační média, sloužící k určitým účelům

Pěstování anaerobních bakterií





Smysl kultivace bakterií

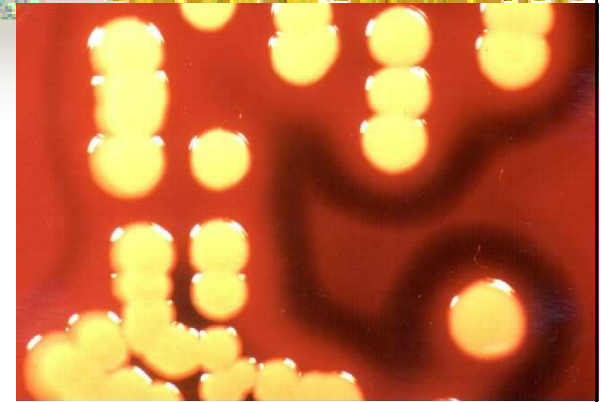
- Proč vlastně v laboratoři bakterie pěstujeme?
 - Abychom je udrželi při životě a pomnožili. K tomu slouží kultivace na tekutých půdách i na „pevných“ půdách (to jsou půdy, které netečou, jejich základem je většinou agarová řasa)
 - Abychom získali kmen – pouze pevné půdy
 - Abychom je vzájemně odlišili a oddělili – používají se diagnostické a selektivní půdy, sloužící k identifikaci



Vzorek a kmen

- **Vzorek** je to, co se odebírá pacientovi. Vzorek obsahuje buňky makroorganismu, různý počet druhů mikrobů (nula až třeba dvacet) a další příměsi
- **Kmen – izolát** – je populace jedné bakterie, izolovaná ze vzorku na pevné půdě
- Abychom získali kmen, musíme bakterii pěstovat na pevné půdě a dobře rozočkovat

Pojem kolonie



- Kolonie je útvar na povrchu pevné půdy. Pochází z jedné buňky nebo malé skupinky buněk (dvojice, řetízku, shluku)
- V některých případech můžeme z počtu kolonií odhadnout počet mikrobů ve vzorku – nebo přesněji počet „kolonii tvořících jednotek“ (CFU)
- Popis kolonií má významné místo v diagnostice

A microscopic view of soil bacteria, showing numerous rod-shaped and spherical cells in various orientations and sizes, set against a dark background. The bacteria are illuminated, highlighting their textures and shapes.

Nashledanou

Příště budeme pokračovat povídáním o
jednotlivých typech kultivačních půd