

Jaká je definice bakteriálního druhu ?

Základní taxonomická jednotka:

❖ **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 popsanych druhů

Varianty uvnitř druhu se liší v:

- antigenních strukturách (pak jsou jednotlivé menší jednotky než druh tzv. sérovary)
 - v biochemických vlastnostech (biovary),
 - v rostlinné virulenci (patovary)
 - dále podle citlivosti k fágům (fagotypy).
-
- 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 sbírkách**
 - Nekultivovatelné mikroorganismy jsou popisovány jako tzv. candidatus
 - Koncilium International Committee for the Systematics of Prokaryotes definuje druh jako „organismus charakterizovaný souborem popisů a charakteristik hlavně analýz genomu. Jeden druh je tvořen koherentní skupinou individuálních izolátů s vysokým stupněm podobnosti v mnoha nezávislých vlastnostech testovaných za standardizovaných podmínek. Druh je taxonem, který je analyzován metodami 16S rDNA a DNA-DNA hybridizací (DNA - typizačními metodami), dále pulzní gelovou ELFO, MS“... Nové druhy jsou tedy analyzovány pomocí těchto metod a pomocí vhodných statistických programů. To je rozdílem pojetí druhu např. u 1. a 2. vydání Bergey's Manual.
 - Sbírkové kmeny druhu jsou uloženy ve významných světových sbírkách a reprezentují fylogenetické jednotky. V Approved List of Bacterial Names jsou abecedně a chronologicky vyjmenovány oficiální validovaná jména druhů (V IJSB). V r.1996 bylo zahrnuto 5 569 taxonů. Ke každému taxonu jsou uvedeny reference, nomenklatura, publikace (pokud jsou k dispozici jen validační listy), přesun do jiného rodu (značeno šipkou), synonyma (značeno=).
 - (Bacterial Nomenclature Up-to-Date, dostupná na <http://www.dsmz.de/bactnom/bactname.htm>).
 - Identifikací druhu prakticky dokážeme jeho klasifikaci. Přeřazením druhu se mění pouze jeho jméno rodové, druhové zůstává. Druhové jméno se většinou dává dle charakteru vlastností.

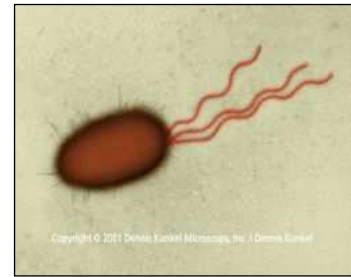
Práce s bakteriemi v laboratoři:

Podle WHO – 4 třídy podle patogenity:

- 1) druhy nejsou známé jako původci onemocnění
- 2) druhy způsobující běžná onemocnění + potenciální patogeny; bezproblémová léčba
- 3) druhy způsobující vážná onemocnění, léčba není 100%
- 4) druhy, u nichž je léčba neznámá

Escherichia coli - Enterobacteriaceae

- **gramnegativní** tyčky se zaoblenými konci, **2-3 x 0,6 μm**, někdy kokobacily, barví se homogenně. Na povrchu mají různé typy **fimbrií** (jedny zastoupeny ve velkém počtu na povrchu: umožňují adhezi na hostitelskou buňku, další - sex pili, jsou v menším počtu a umožňují vazbu mezi donorem a recipientem při konjugaci (viz snímek konjugace níže). Některé typy *E. coli* tvoří pouzdra a jejich kolonie mají hlenovitý charakter.

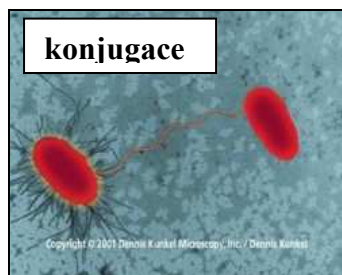


- běžný **komenzál** tlustého střeva, pomáhá udržovat **rovnováhu mikroflory** – působí proti škodlivým bakteriím, **syntetizuje vitaminy A, B, K**
- mimo střevo větš. patogen (nebezpečí při perforaci střeva)

- fekálním znečištěním se dostává **do vody**, kde může přežít řadu týdnů (je to tedy nejběžnější indikátor **fekální kontaminace** pitné vody)

- určité ze stovek kmenů (nikoli z našeho cvičení) však mohou způsobovat **onemocnění a to střevní i mimostřevní** (komenzální sérotypy vyvolávají onemocnění močových cest po adhezenci, septická onemocnění, infekce ran, hnisavé procesy):

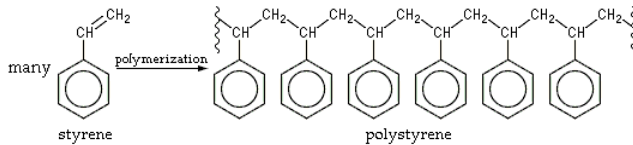
- antigenní struktury na povrchu buňky (polysacharidy, proteiny membrán, bičík...): podle nich se dělí na **sérotypy, kterých je celých 240** (kombinace antigenů)
- ***Escherichia coli* K1** – způsobuje meningitidu a septikémii (septikémie je těžká infekce provázená systémovými projevy zánětu; z infekčního ložiska v těle se občas či trvale uvolňují choroboplodné zárodky do krve = bakteriémie)
- některé kmeny způsobují **cestovatelské průjmy** - enterotoxigenní (ETEC) – u hostitele druhově specifické fimbrie pro adhezi; endemický výskyt v teplých oblastech
- **průjmy novorozenců** - enteropatogenní *E. coli* (EPEC) – alterace epitelů střeva
- enteroinvazivní (EIEC)
- **enterohemorragická *E. coli* (EHEC)** - způsobuje **hemorrhagie** (krvácení do orgánů trávicího traktu), v USA „hamburger disease“ – spojená se sekaným masem v bulce (pouze 10 bakteriálních buněk stačí ke kontaminaci jídla; kmen ***E. coli* O157:H7** je komenzálem dobytka, kuřat, vysoké zvěře, ovcí, koz a prasat; zvířecí přenašeči jsou rezervoárem, nejeví známky onemocnění. Lidé: krvavé průjmy (poprvé v r.1982)
- onemocnění bylo popsáno rovněž z kontaminace nepasterizovaného jablečného a pomerančového džusu, mléka a vody, 10 – 72h po strávení kontaminované potravy může propuknout infekce; **mezilidský přenos** se vyskytuje zejména v prostředí nemocnic, sanatorií, jeslí; mortalita je u starších osob až nad 50%
- *E. coli*, jakožto **model genového inženýrství** (známý genom), je však i užitečným bakteriálním druhem: dnešní elegantní metoda vloží lidský gen pro tvorbu inzulínu do bakterie *Escherichia coli*, které se kultivují ve velkokapacitních fermentorech a jsou schopny vytvořit **tuny lidského inzulínu** schopného uspokojit rostoucí počet pacientů s diabetem



E. coli

Pseudomonas putida

- jeden ze zástupců druhově bohaté rodiny rodu *Pseudomonas*; uvnitř tohoto rodu je přibližně **160 druhů** (!), z toho 100 druhů *sensu stricto*
- při bioremediacích se využívá její schopnosti degradovat **toluen**! Remediacce půd znečištěných **naftalenem**; dokáže konvertovat **styren** na odbouratelné polyhydroxyalkanoáty (recyklace polystyrenu)



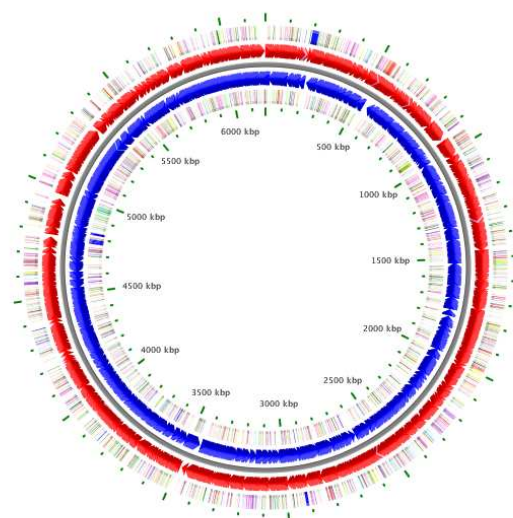
- úspěšně působí jako **biokontrolní agens** proti houbám *Fusarium* a *Pythium*



- projekt sekvenování genomu: kmen *Pseudomonas putida* strain KT2440 se rovněž zařadil mezi skupiny organismu se známým genomem



Pseudomonas putida KT2440, complete genome



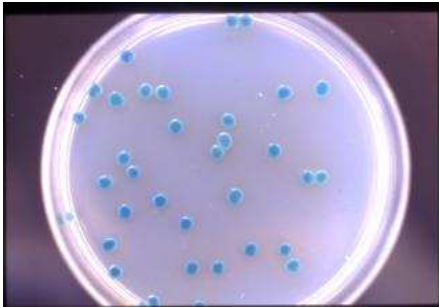
Accession: NC_002947

Length: 6,181,863 bp; Genes: 5,371

- rod *Pseudomonas* je **geneticky a metabolicky velice heterogenní**
- velmi rozmanitá a ekologicky významná skupina bakterií; zástupci rodu osídlují všechna prostředí: jako **saprophyti** izolováni z mnoha přírodních zdrojů (říční vody, půdy, sladké i slané vody, z kalu, piva, javorového sirupu, mléčných výrobků, obilnin)
- díky **širokého spektra metabolických drah** se tato přizpůsobivá skupina bakterií podílí na **geochemických cyklech a biodegradacích**. Rod *Pseudomonas* se významně uplatňuje při **bioremediacích** (zejména *Pseudomonas putida* a *P. sp.*) nebo jako **biokontrolní agens**
- ***Pseudomonas* Genome Project**
- gramnegativní rovné nebo mírně zakřivené tyčinky 1,5 – 5 μm x 0,5 – 1 μm
- buňky zástupců rodu *Pseudomonas* vykazují schopnost pohybu jedním nebo více **polárními bičíky**; charakteristickým znakem je dále tvorba **fenazinových exopigmentů**

pyocyaninu a fluorescinu (pyoveridinu), které způsobují žluté až modrozelené zbarvení kultivační půdy.

- kolonie na živném agaru jsou pravidelné, okrouhlé, hladké i drsné (*P. balearica*)
Jednotlivé znaky se obvykle hodnotí mezi 18-24h kultivace



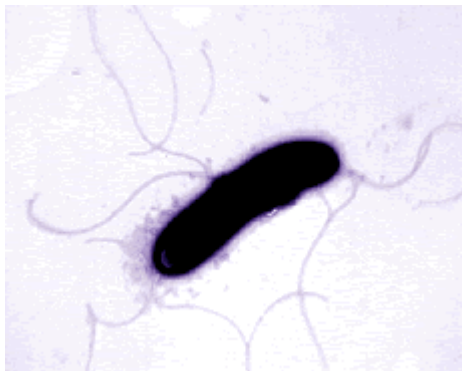
CHROMagar Pseudomonas

Pro izolaci typických modrozelených kolonií
Pseudomonas aeruginosa, *Pseudomonas fluorescens*,
Pseudomonas putida a *Pseudomonas fragilis*
(jiné druhy inhibovány nebo bezbarvé)

- projevují se jako významné **lidské, zvířecí i rostlinné patogeny**
- jsou jednou z bakteriálních skupin způsobujících **nozokomiální infekce**; faktorem virulence je tvorba **biofilmu** s vysokým stupněm rezistence na povrchu tkání nebo předmětů; příkladem druhů se schopností tvorby biofilmu jsou *P. aeruginosa* nebo *P. fluorescens*; kolonizace je možná díky tvorbě polysacharidu **alginátu**, který tvoří matrix biofilmu a chrání buňky vůči působení desinfekčních látek a v těle hostitele vůči působení protilátek a antibiotik



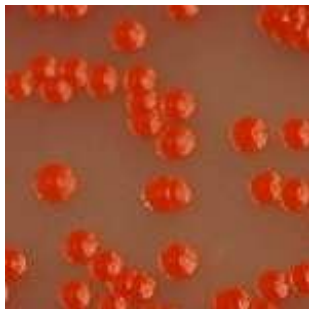
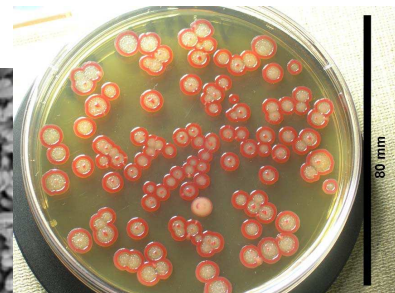
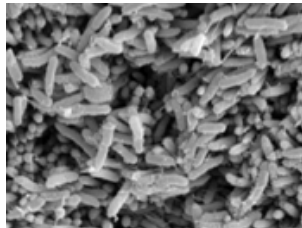
infekce *P. aeruginosa*



Pseudomonas fluorescens

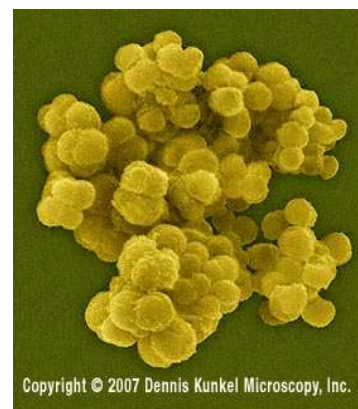
Serratia marcescens - Enterobacteriaceae

- běžná G- rovná pohyblivá tyčinka, častá v prostředí – půda, voda, rostliny, střevní flora
- tento druh se vyskytuje v humánním klinickém materiálu (enterobakterie), původce **nosokomiálních infekcí**, infekcí **močového a dýchacího traktu**, očí, ran, endokarditid, osteomyelitid, meningitid
- rozmezí růstu 5 – 40°C
- pigmentující – červenooranžový prodigiozin
- součást zubního povlaku (pigmentace zubu)
- tvoří růžový povlak ve vlhkém prostředí koupelen
- výskyt rezistencí na antibiotika (informace pro rezistenci nesena doplňkovou genetickou informací = R – plasmidy, které si mohou buňky předávat)
- „zázrak v Bolseně“



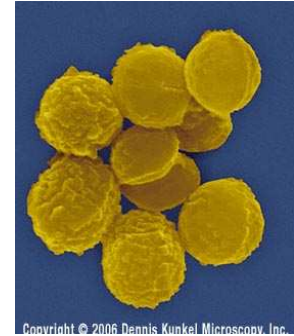
Kocuria rosea

- patří do čeledi *Micrococcaceae*
- grampozitivní koky
- v půdě, ve vodě, na kůži savců
- kolonie pigmentující: růžově, červeně



Micrococcus luteus

- G+ kok, jednotlivě, dvojice nebo řetízky, dělení ve více než jedné rovině; dělení v rovinách geneticky kódováno
- primární výskyt na lidské kůži, dále prostředí, půda, prach, voda, vzduch, potraviny, ústa, sliznice dýchacího traktu
- rozkládá složky potu - zápach
- žlutý nebo světle oranžový pigment
- imunokompromitovaní jedinci – mohou utrpět septický šok



Bacillus cereus

- grampozitivní peritrichálně obrvené tyčky, dvojice, někdy řetízky
- půda, otravy jídla, rýže, gastroenteritidy
- v půdě nejednotné podmínky: tvoří velmi odolné endospory – zde oválné a centrální

Endospora je dormantní („spící“), odolná, nereproduktivní struktura tvořená malým počtem převážně G+ bakterií rodů *Bacillus* (aerobní tyčky), *Clostridium*, *Thermoactinomyces* a *Desulfotomaculum* (anaerobní tyčky), *Sporosarcina* (aerobní koky), *Sporolactobacillus*, *Oscillospira*, *Thermoactinomyces*, ale také některými G - bakteriemi (*Coxiella burnetii*). Objevují se přibližně 6 – 8 hodin po ukončení logaritmické fáze růstu.

Pro bakterii představuje spóra možnost přežít podmínky nevhodné pro život i po tisíce let, jsou také prostředkem šíření bakterií i na značné vzdálenosti a v různém prostředí. Tvorba spory není odpovědí na prostředí, ale přípravou na nepříznivé podmínky. Makromolekuly ve spoře jsou stabilizovány přítomností specifických bílkovin, dále ztrátou vody a její náhradou vápníkem.

Jsou odolné k působení UV záření, záření γ , k vysoušení, lysozymu, teplotním změnám, nedostatku živin a působení mnoha dezinfekčních prostředků. V ethanolu mohou přežít několik měsíců.

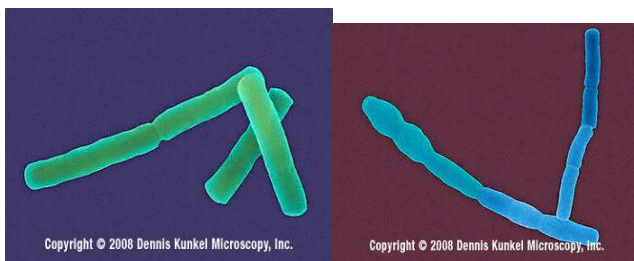
Sporicidní látky: ethylenoxid, beta-propionlakton, koncentrované louhy a kyseliny, formaldehyd při prodloužené expozici, kyselina peroctová – Persteril, jodové preparáty, chloramin.

Morfologie

Mikroskopie: spory jsou vysoce světlolomné útvary nepřijímající Gramovo barvivo. Tvar, velikost a uložení – charakteristický znak pro identifikaci.

Spory bacilů = biopesticidy - Bt toxin transgen - *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*

- rod *Bacillus*: velké množství cca 60ti druhů, jejichž diference obtížná
- několik druhů rodu jsou patogeny člověka či hmyzu
- dalším významným druhem rodu *Bacillus* je *Bacillus anthracis*



Bacillus cereus

