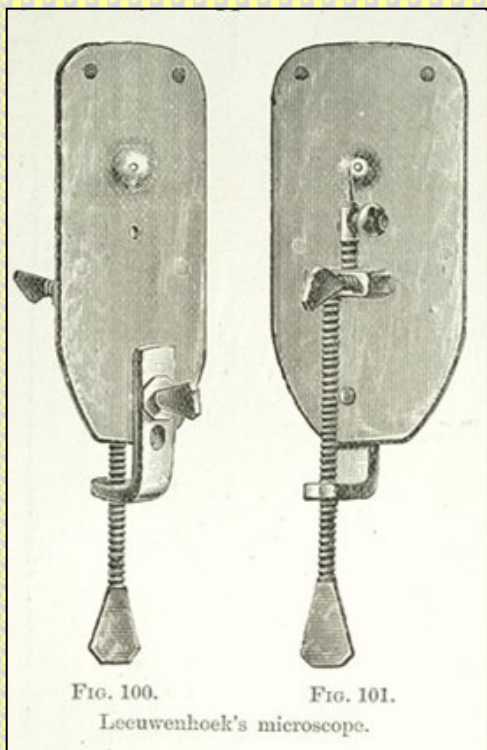


Cytologie a morfologie bakterií



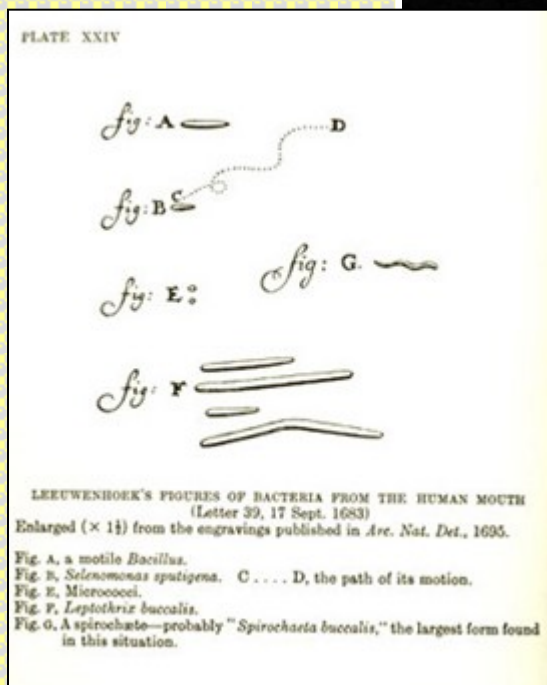
Janssenovi Z 9 x, ~ 1595



Anthony van Leeuwenhoek
Z 50 - 275 x, 17.stol

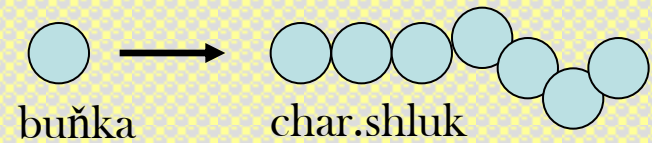


SEM *Treponema pallidum*
útočící na membránu
savčí buňky

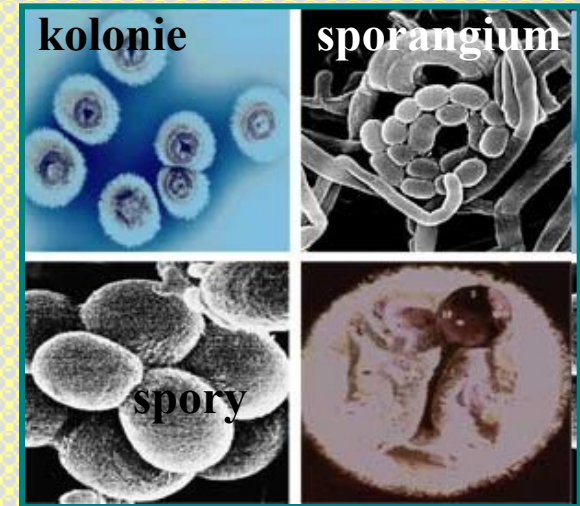


Anthony van Leeuwenhoek
První nákresy bakterií
(z ústní dutiny člověka)

Morfologie



- Buňky
- Charakteristických shluků buněk
- Buněčných útvarů (spory, konidie, sporangia, pouzdra..)
- Bakteriální kolonie



Většinou druhově charakteristické
= identifikační znak

Pozor na: fázi růstového cyklu!

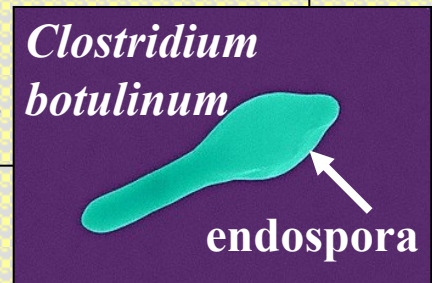
endospory vyklenující buňku

stáří kultury

pleomorfní buňky

Př: vzhled genet. materiálu
v závislosti na stáří buňky

E. coli



Morfologie pleomorfních buněk.

Další potíže:

Jsou barvitelné Gramem?

Haemophilus - ano

Bez b.s.

Mykobakteria, mykoplazmata - nikoli

Mykologové kys



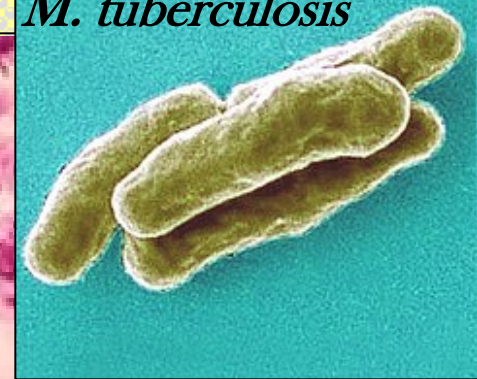
Pleomorfní buňky rodu
Corynebacterium

Acidorezistentní buňky:

Odmítají Gramovo barvení

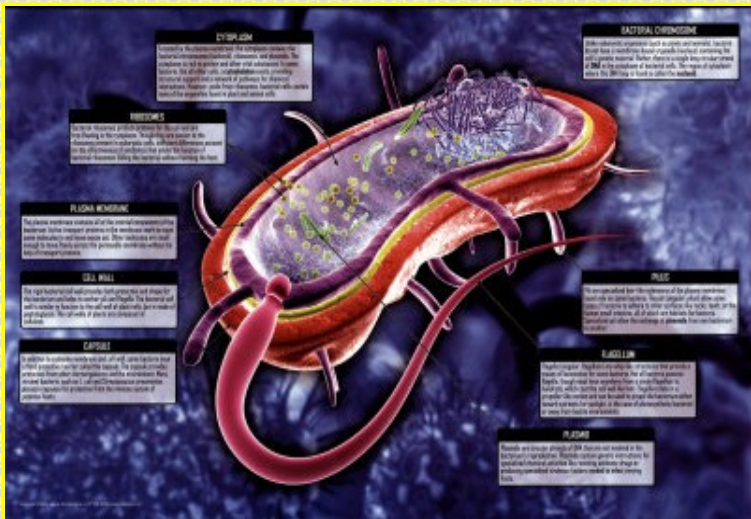
Odmítají se po nabarvení odbarvit ethanolem i kyselinou. Př: *Corynebacterium*, *Nocardia*...

Pleomorfní buňky
M. tuberculosis

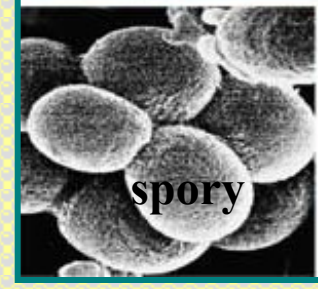
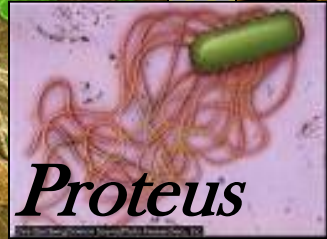
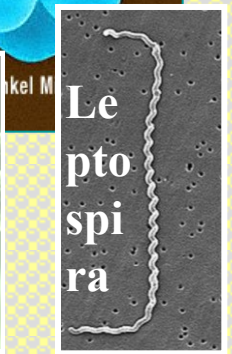
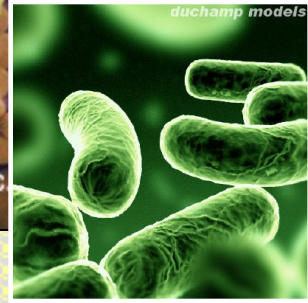
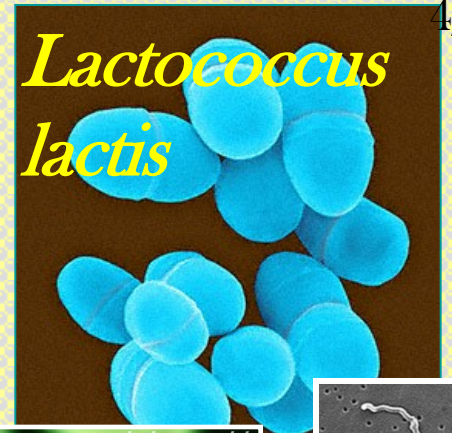


Mycobacterium avium-intracellulare

Acidorezistentní barvení buněk histologického řezu lymfatické uzliny



Struktury G- buňky

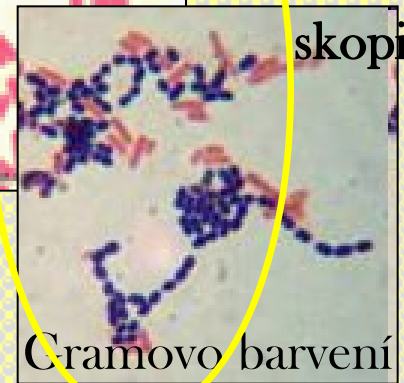
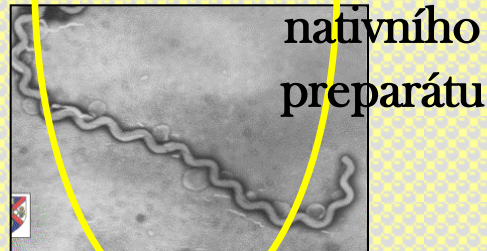
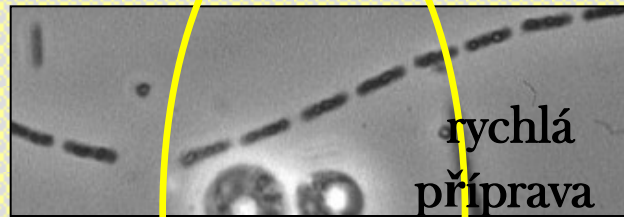


Morfologie buňky

• PREPARÁT

- co chceme vidět? - podle toho preparát a typ mikroskopie

tvár buňky - fázový kontrast, barvený fixovaný prep.
a struktur



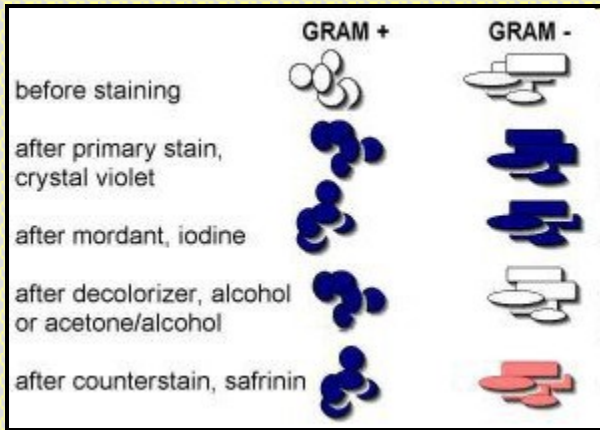
Světelná
Fázový kontrast
Fluorescenční
Elektronová...

světelná
mikro-
skopie

pohyb buňky - fázový kontrast, fluorescence

barvené struktury - pomáhají identifikaci (PHB, síra..)

typ buněčné stěny - Gramovo a acidorezistentní b. 5/



Je neznámý vzorek vůbec barvitelný Gramem?
Není gramlabilní?



Mycobacterium tuberculosis
Zeihl-Neelsonovo barvení (červeně)

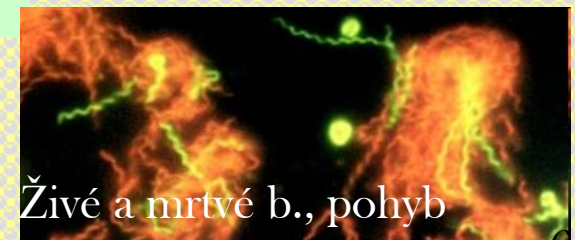


C1
mikroskopie?
Typ preparátu
Typ mikroskopie
(typ b. stěny,
průkaz struktur,
růstového cyklu)



Fixov. prep. - tvar a typ b.

Živý (nativní) preparát bez fixace - vidíme nedeformovaný tvar buňky, spory, morfologii seskupení buněk, pohyb buněk

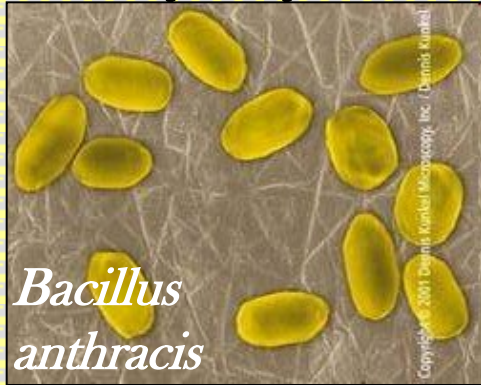


Bakterie nebarvitelné Gramem

- *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](#))

U jednoho bakteriálního rodu různý vzhled char. tvaru buňky!

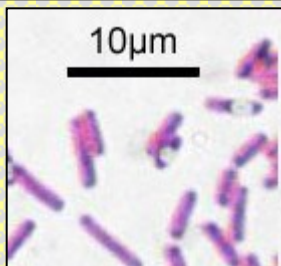
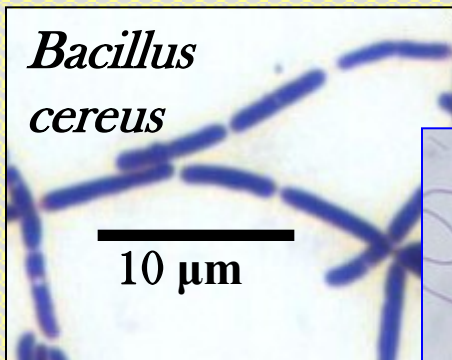
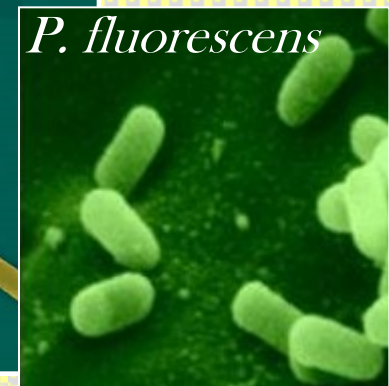
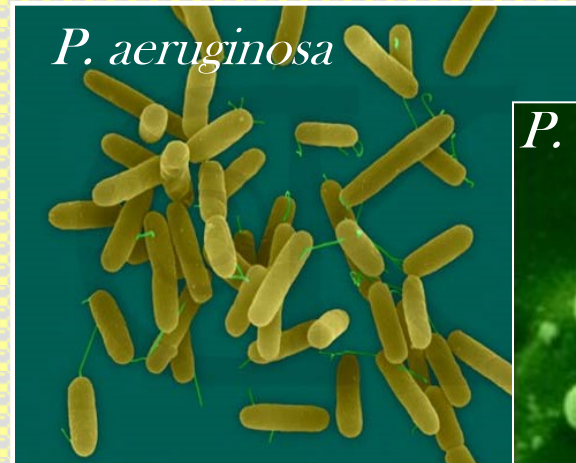
- Př: tyčky bacilů



- *Haemophilus*



- *Pseudomonas*



Bacillus subtilis

Posuzujeme-li vzhled buňky kmene určitého bakteriálního druhu, je třeba si uvědomit:

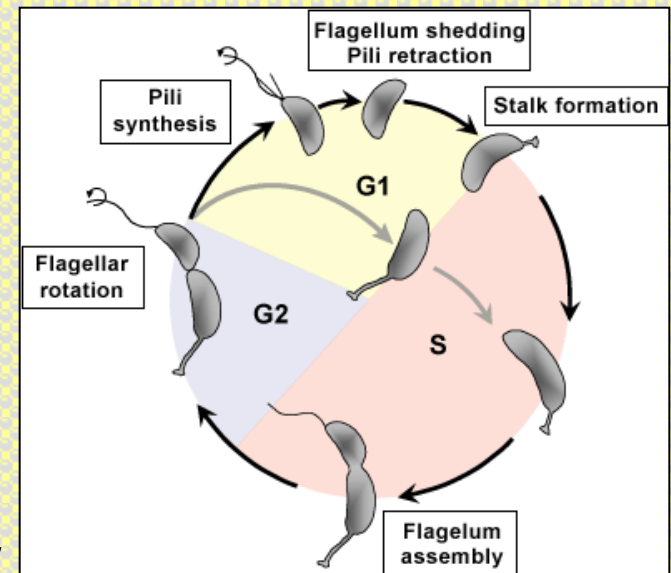
1) Prochází tento druh růstovými cykly?

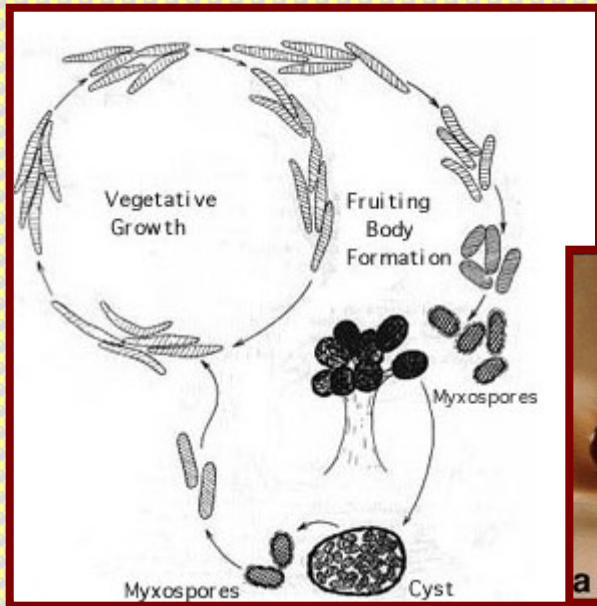
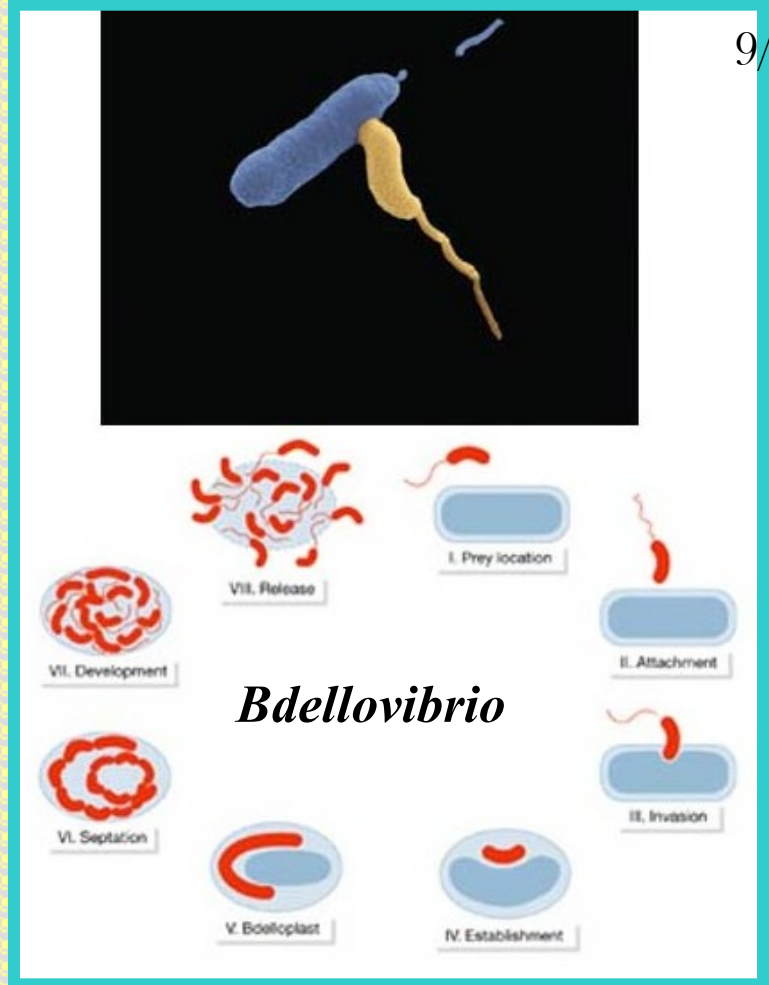
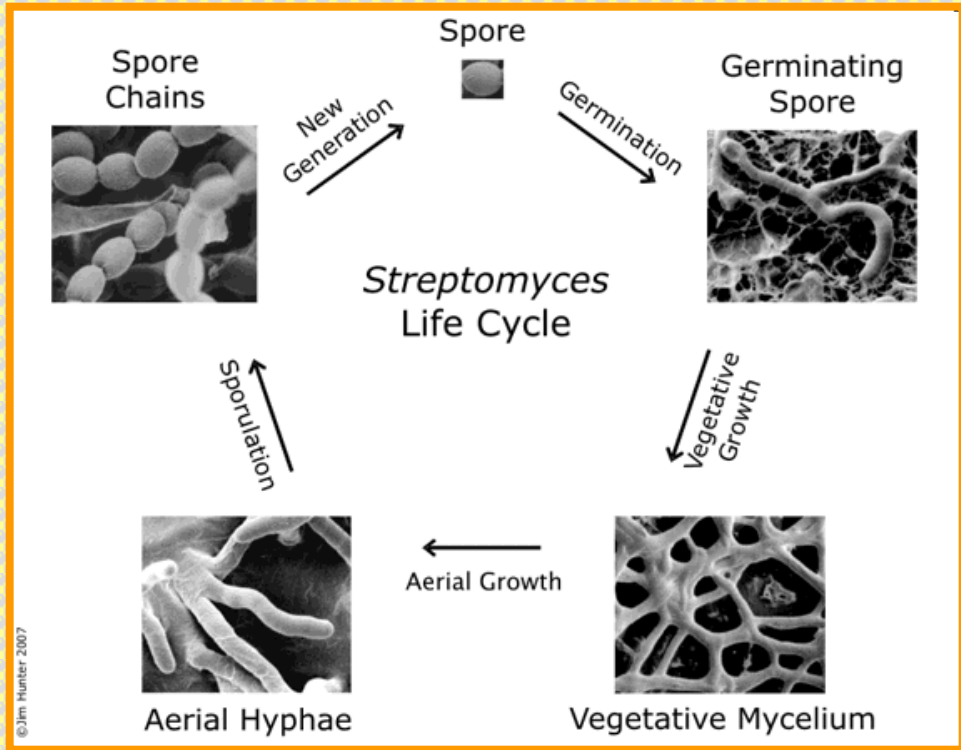
- v každém z nich má pak buňka jinou morfologii!

Př: *Chlamydia*, *Bdellovibrio*, *Streptomyces*, *Caulobacter*, myxobakterie....

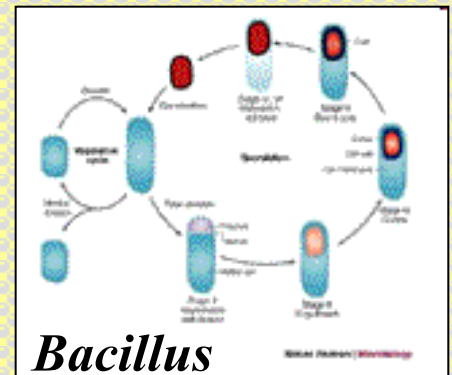
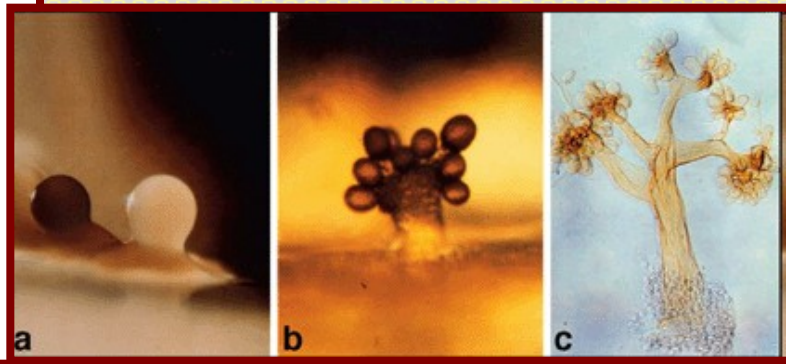
Mění se nejen vzhled buňky, ale buňka v cyklech prochází typickou změnou vnitřních struktur.

Buněčný cyklus
Caulobacter crescentus



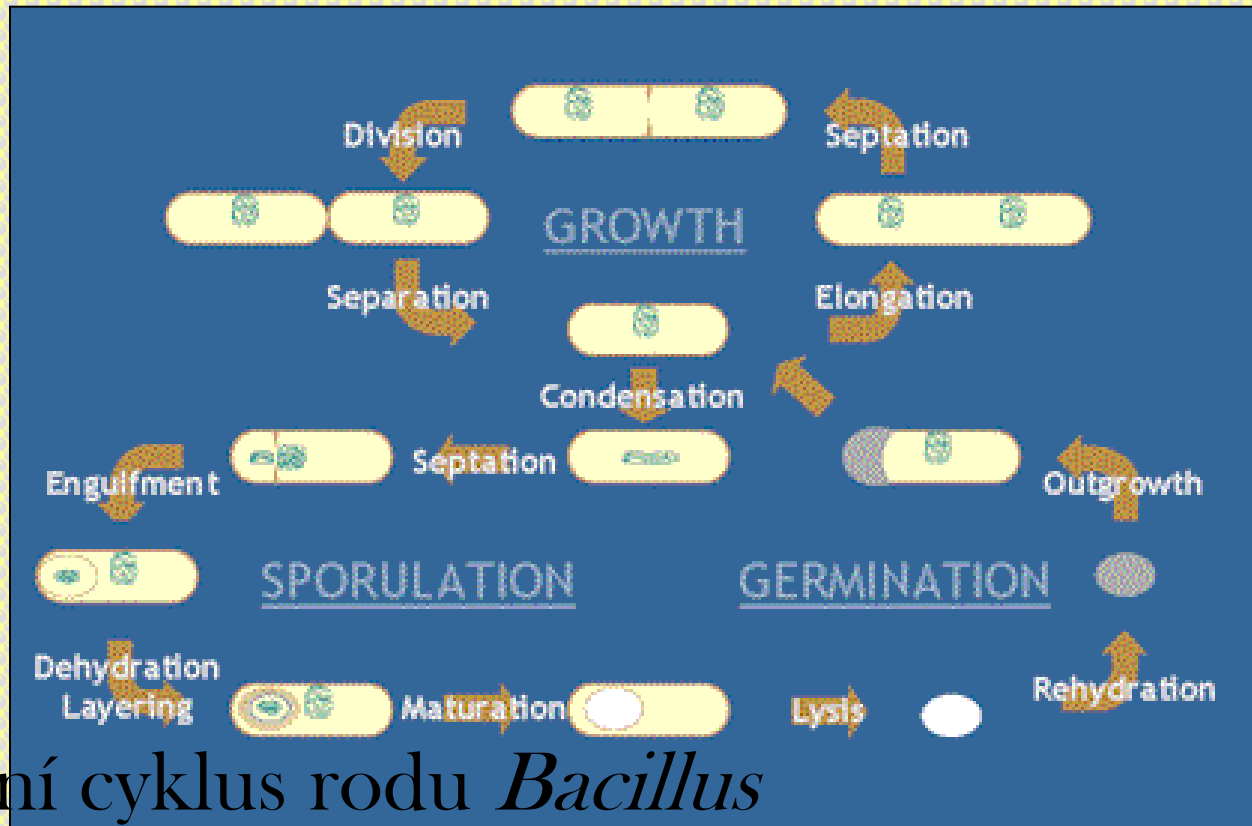


Myxobakterie



Bacillus

Morfologie buňky vprostřed buněčného cyklu



Životní cyklus rodu *Bacillus*

- u některých jeho druhů i u jiných rodů navíc různá barvitelnost

Gramem při různém stáří buněk - až gramlabilní

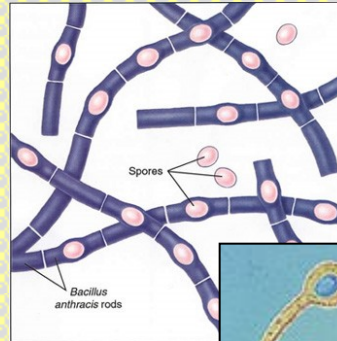
→ při popisu preparátu nutno uvažovat stáří buněk!

2) Vytváří posuzovaný druh endospory?

- v preparátu pak mohou měnit tvar buněk!



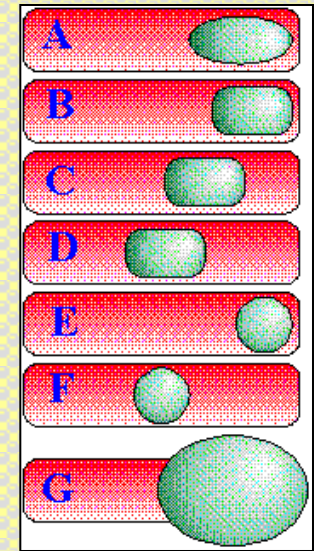
Clostridium difficile



Bacillus anthracis



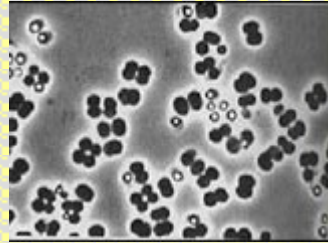
Clostridium tetani



„Voják umírající na tetanus“
Sir Charles Bell
lukovité prohnutí zad (opisthotonus)
křečovitý výraz
Originál je k vidění:
Royal College of Surgeons
of Edinburgh, Scotland.

Endospory vs. exospory

- G+ bakterie - endospory



Sporosarcina - balíčky 8 buněk
fázový kontrast

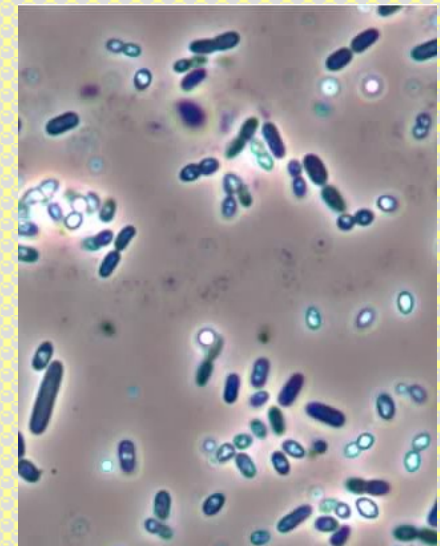
termorezistentní

Bacillus, Clostridium, Sporosarcina,
Sporolactobacillus, Thermoactinomyces

- G- bakterie - exospory

Méně rezistentní, odolné zejm. vůči vysychání

Azotobacter, Methylosinus

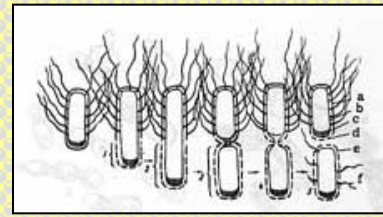


Azotobacter

ALE: Př: *Coxiella* je G- a tvoří endospory!

- Konidie: Actinobacteria

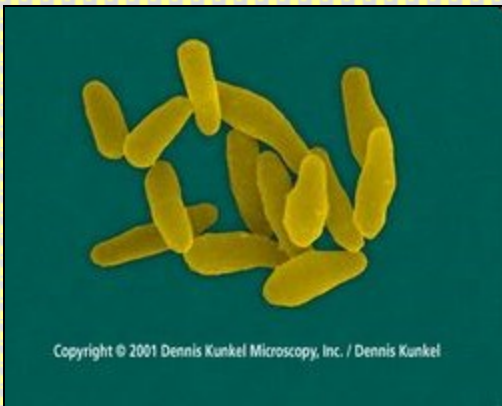
3) Stárnutím mění buňky tvar



4) Závislost tvaru buňky na vnějším prostředí

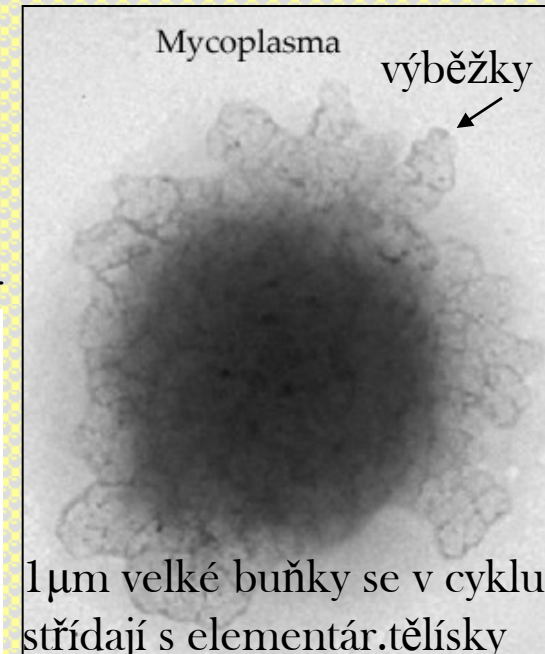
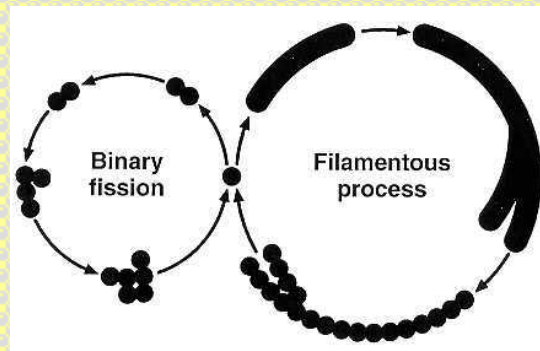
- živiny, tlak, osmolarita...

5) pleomorfní buňky - př. rody *Mycobacterium*, *Corynebacterium*, *Haemophilus*, *Mycoplasma*



Corynebacterium

Pleomorfní mykoplazmata:
nejmenší bakteriální
buňky (0,2 - 0,3 μm);
bez buněčné stěny! Poté:
Nepůsobí betalaktamy
Osmoticky stabilní v host.b.



Co je možno vyčíst z tvaru buňky

- tvar buňky napovídá o metabolické aktivitě (kokovité buňky vykazují max. metabol. aktivitu neboť mají největší povrch ku objemu b.)



- fáze růstového cyklu
-

Morfologie charakteristických shluků buněk

- typické shluky napomáhají identifikaci

řetízky koků: *Streptococcus*



řetízky bacilů: *Bacillus*

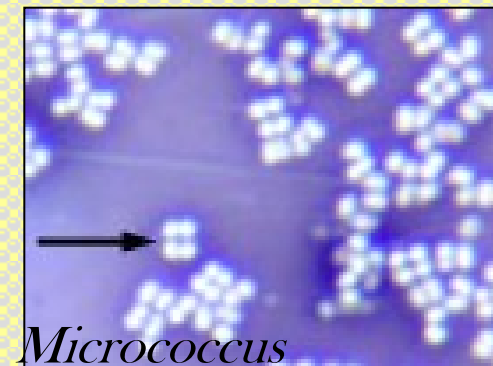
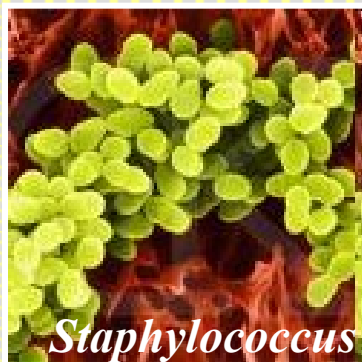


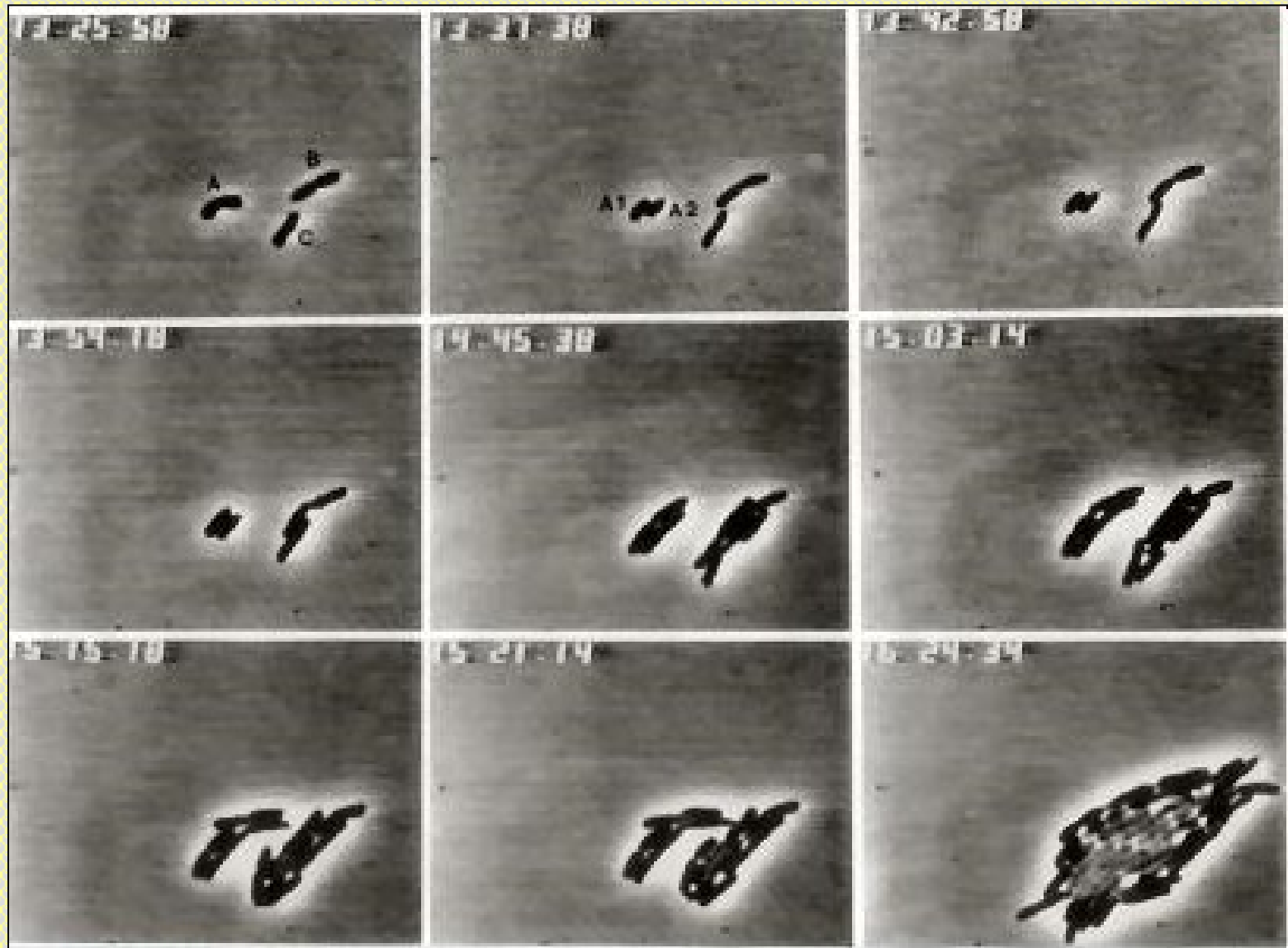
palisády: *Corynebacterium*

tetrády koků: *Micrococcus*

balíčky = sarciny *Sarcina*

hrozníčky: *Staphylococcus*





Mikrokolonie *E. coli* vznikající ze tří mateřských buněk (na agaru)
- charakteristický vzhled vznikajících útvarů dělicích se buněk u růz. rodů....

Morfologie bakt. kolonií

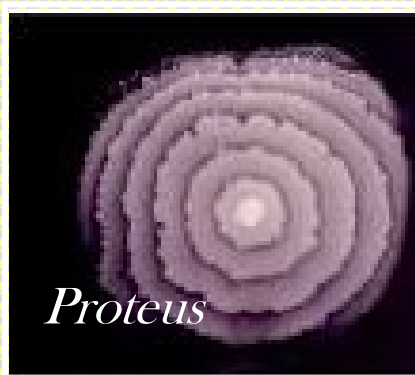
- potřeba zvážit typ media, ne kterém kolonie hodnotíme!
kultivace - zda vůbec kultivovatelné?? - sledování typu kolonií

Př: sledování morfologie kolonií

- univerzální media, jiný vhlad na
selektivním - zda vůbec růst či ne? barevná reakce?)

S-, R- a M-formy

sledování pohybu terasovité kolonie (Př: *Proteus*)

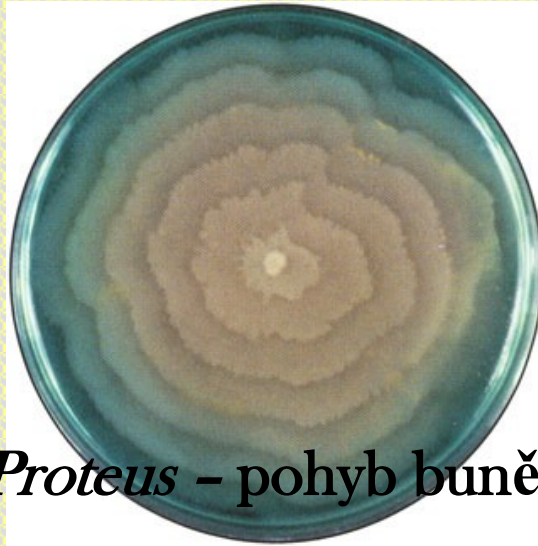


Morfologie bakteriálních kolonií

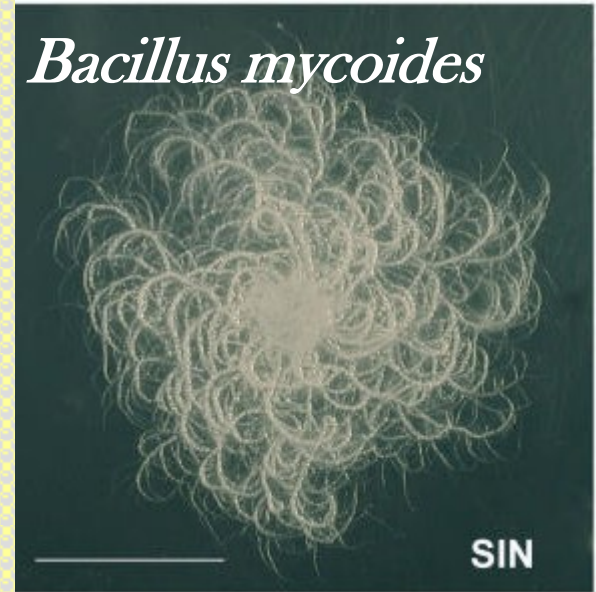
I. na základních půdách



Nocardia



Proteus – pohyb buněk



Bacillus mycooides



Streptomyces



Streptomyces



Serratia marcescens

Bakteriální kolonie na
II. diagnost. půdách



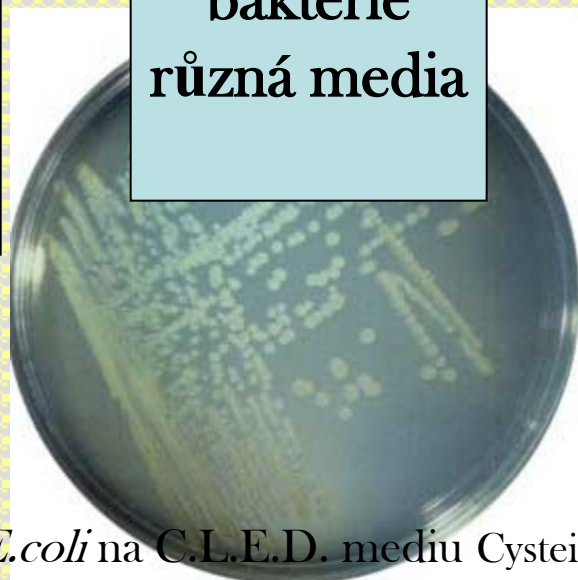
E.coli na krevním agaru



Jeden druh
bakterie
různá media



E.coli na MacConkey agaru



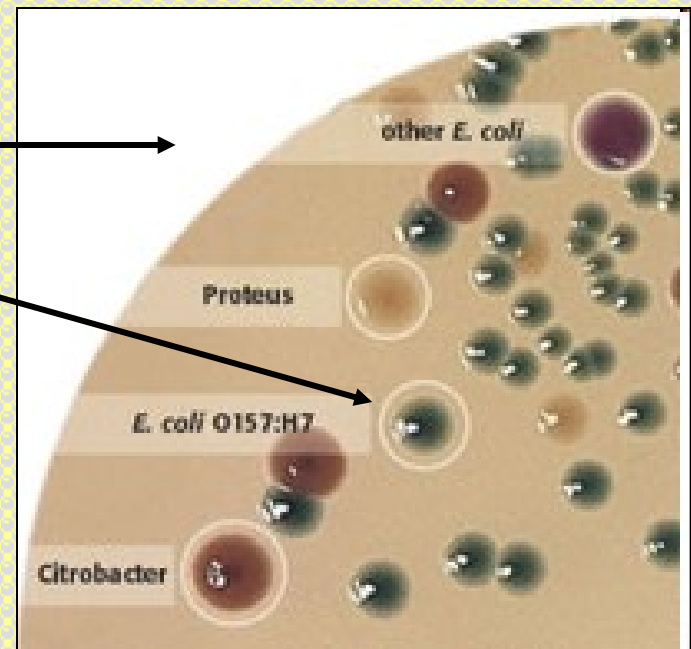
E.coli na C.L.E.D. mediu Cysteine Lactose Electrolyte Deficient Agar



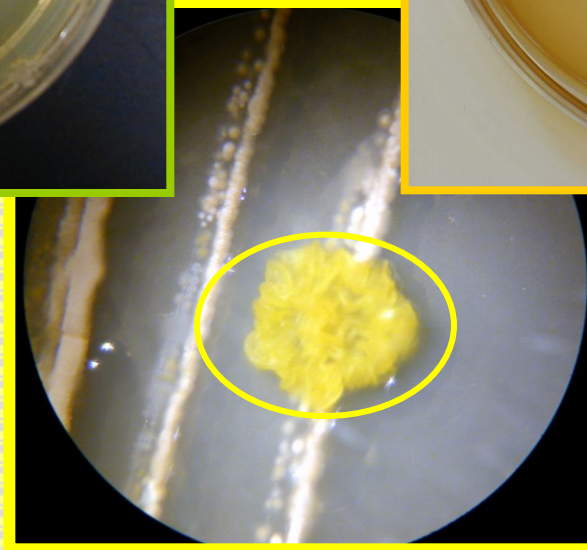
Bakteriální kolonie na III. selektivních půdách

O157:H7 ID Agar

medium selektivní až na kmen!
Detekce kmene *E. coli* O157:H7
proti jiným kmenům *E. coli*



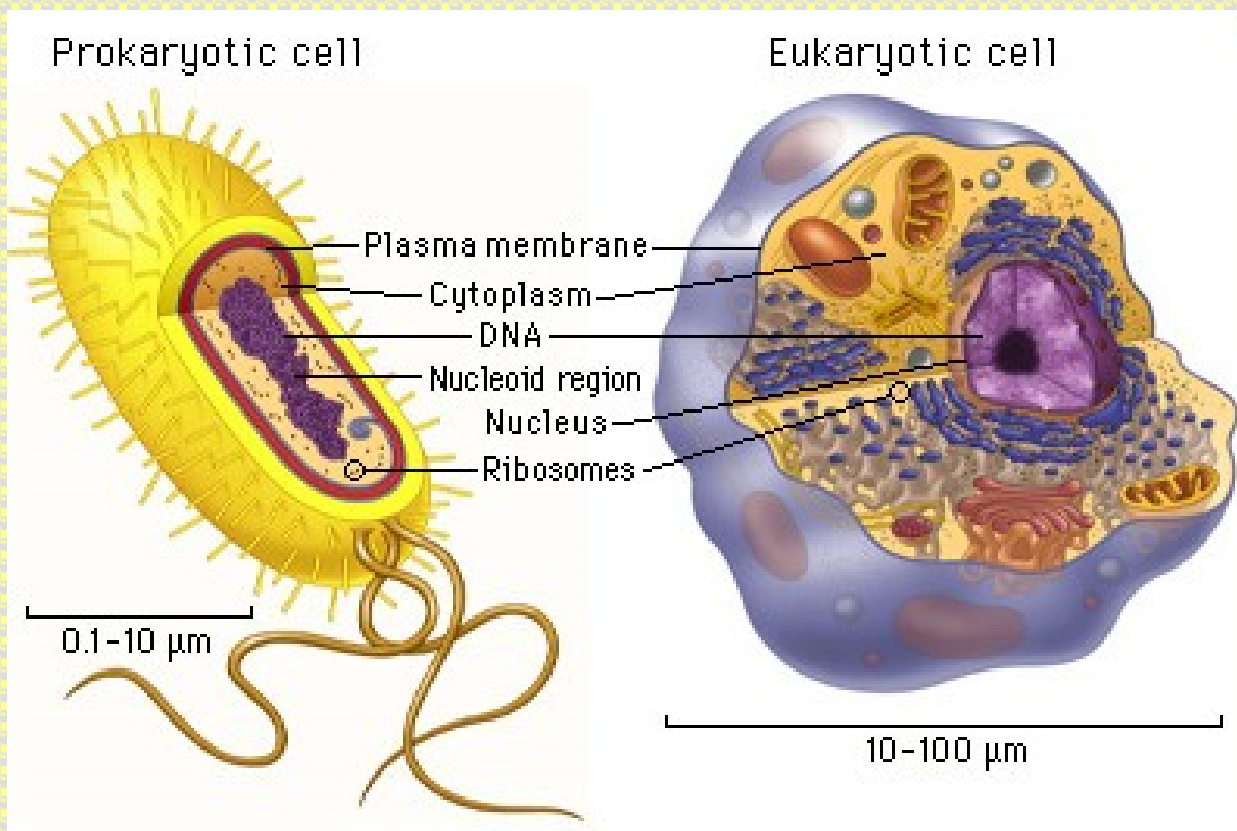
Kontaminace na misce!



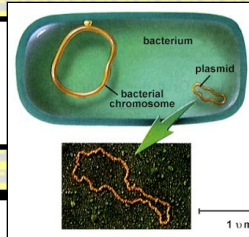
Cytologie

BAKTERIÁLNÍ BUŇKA x vs. eukaryotní

- nutno porovnat pro pochopení fyziologie



Zvláštnosti prokaryotické buňky



- živý, otevřený systém schopný regulace a autoreprodukce
- jádro neodděleno od CPL membránou, větš. kruhová (i lineární) DNA
- haploidní buňky (1 alela) množící se nepohlavně
- bez buněčných organel, jediná membrána je **cytoplasmatická**
- **ribosomy** se liší od ribosomů eukaryotních buněk - menší, volně v CPL vyjma Archea:

5S, 16S a 23S rRNA

translace začíná N-formylmethioninem

geny pro RNA bez intronů

specifické struktury a vlastnosti bakt. buňky:

peptidoglykan (až na mykoplasmata)

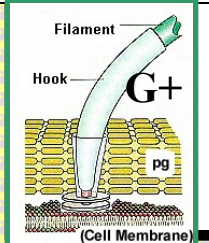
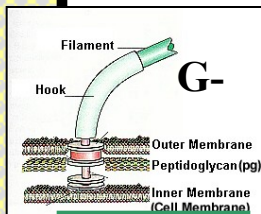
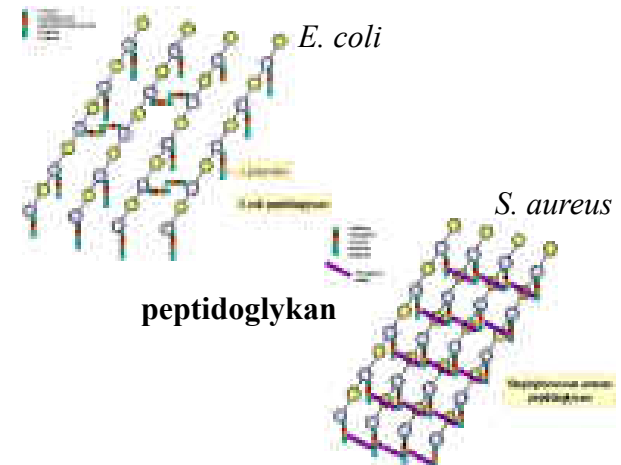
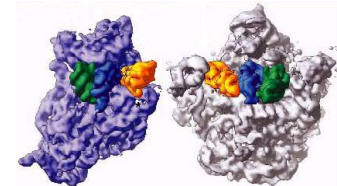
steroly v membránách zcela výjimečně

bičík - globul. bílk. flagelin, pohyb rotací

anaerobiosa, schopnost vázat N

tvorba kyseliny **PHB** (zásob.l.)

pokud **fotosyntéza** - anoxigenní



- rozdíly ve strukturách v říši bakterií - G⁺ a G⁻ atd.

- Cytoplazmaticá membrána a buněčná stěna:

- peptidoglykan + složky v něm (teichoové k., mykolové kys)
- druhy bez buněčné stěny - kde v taxonomii
- CM membrána - poměry, fce a struktura proteinů, lipidů, vnější membrána G⁻, LPS, PS, LP, periplazma
 - mezozomy, fce na membráně, fotosyntéza, typy metabolismu

- Buněčné povrchy

- bílkovina, sacharid
- imunita makroorganismu
- výhody v prostředí (S-layer, pouzdra, slizy, biofilm)

- CYTOSOL

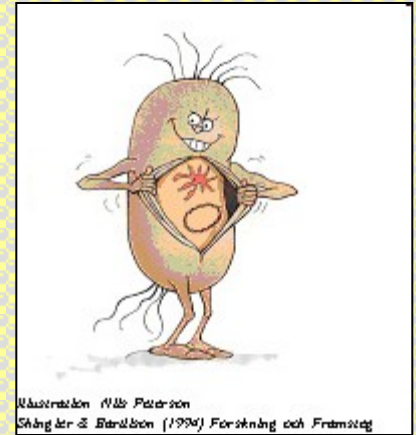
Cytologie - 1) buněčné struktury

jejich vztah k fyziologii

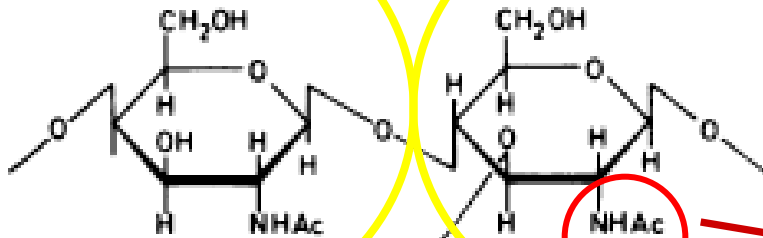
- metody výzkumu

PŘÍKLADY:

- Složky peptidoglykanu (AMK, cukry)
napomáhají při taxonomických studiích
 - složení PG, barvitelnost b. stěny,
serologie, fagotypizace
- Výskyt typ.inkluzí - pomoc při identifikaci
- Bičík - vztah mezi strukturou a mechanismem otáčení, který je různý u různých druhů!!



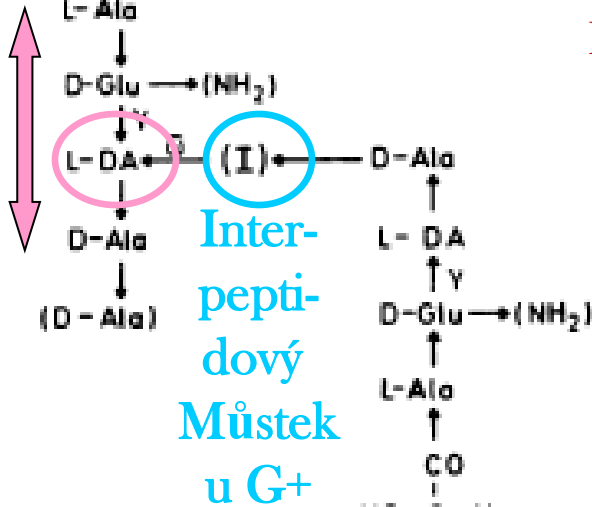
Peptidoglykan = uniformní disacharid
 N-acetylglukózámin + N-acetylmuramová



Vztah mezi tvarem buňky a počtem disacharidových jednotek v peptidoglykanu (10 - 65)

Acidorezistentní mykobakteria, nokardie..
 nebarvitelné Gramem:
 N-glykolylmuramová

Tetrapeptid
 L- a D-AMK
 Spojení:
 rozdíl v pozici 3

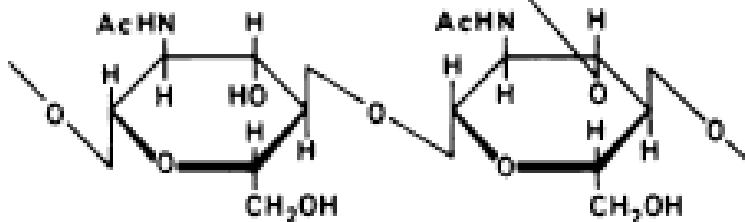


CHEMOTAXONOMIE:

Aminkokyselinové složení tetrapeptidu a můstku!!

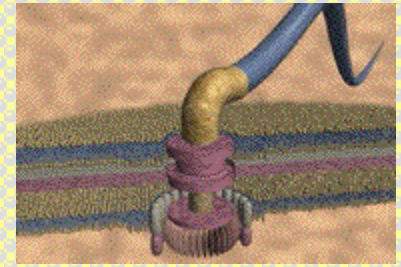
Micrococcaceae – až druhově charakteristická struktura můstku

Streptomycety: 3 pozice unikátní L-amino DAP kyselina

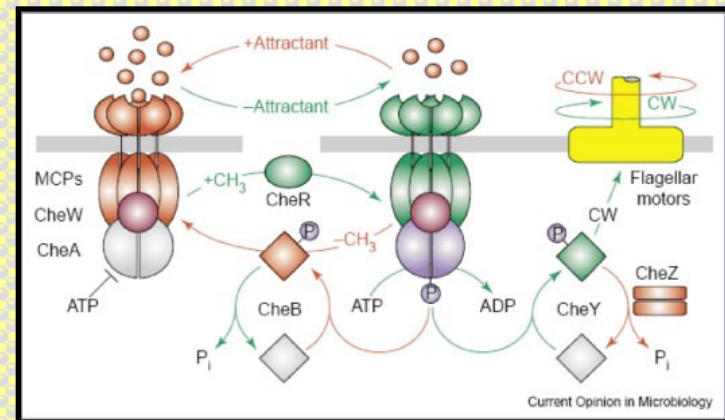
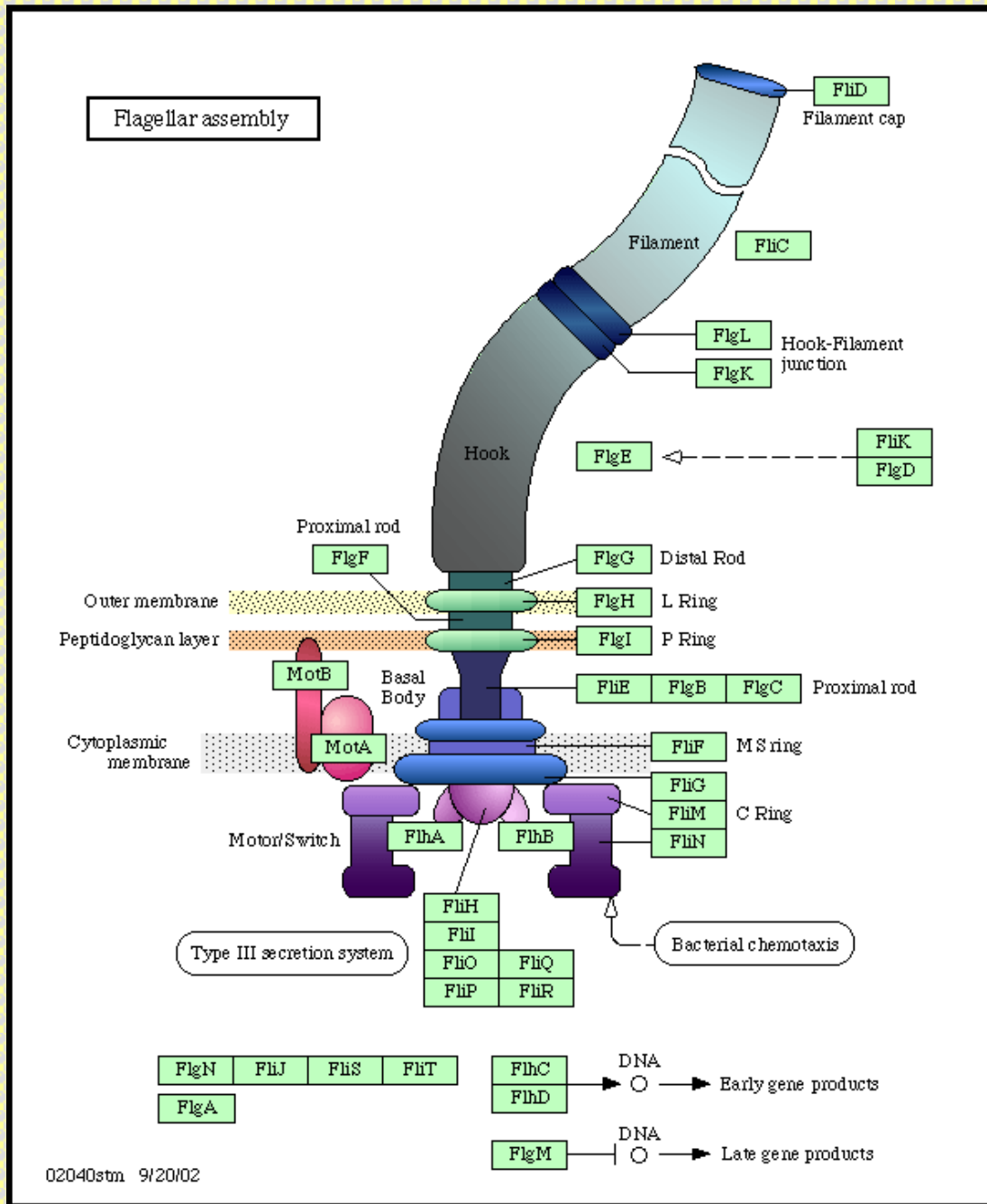


Stěna spory: jiné a unikátní složení peptidoglykanu!

UKÁZKA_2

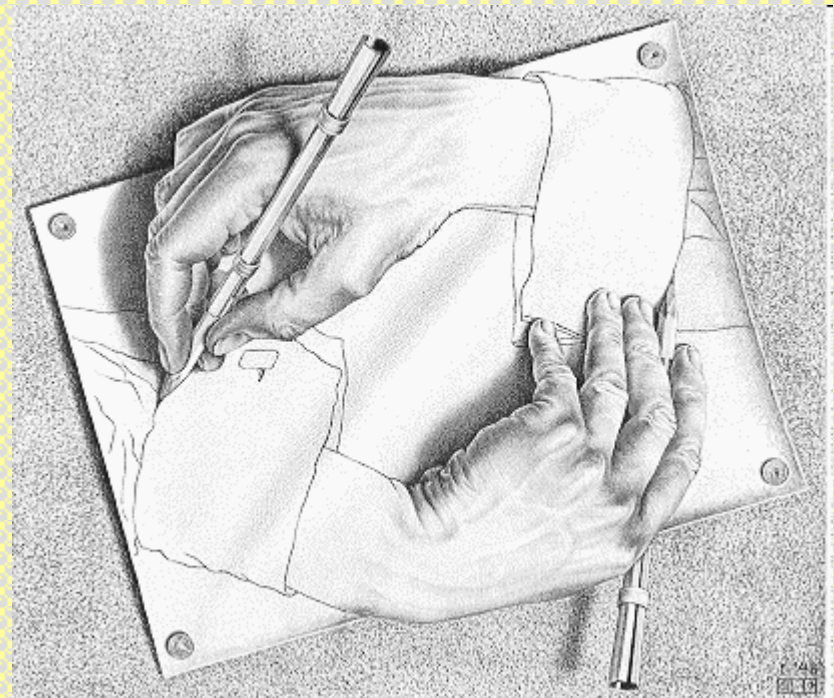


- rotace bičíku kolem vlastní osy - pouze u prokaryot
- poháněn proton motive force (pmf) - pohyb protonů přes CM
- Regulace pomocí MCP systému = proteiny



Cytologie a morfologie buněk
v průběhu buněčného cyklu,
ve fázích růstového cyklu,
při dělení a
smrti buňky

- Opravy vždy
- Nové kapitoly – biofilm
- Rozšíření příkladů růstových cyklů – patogeni, prostředí..
- Protokoly – ppt, snímky na IS
- Bc práce....



Bezpečnost a zásady práce

Plášť, přezůvky, skříňky, jídlo, pití

MO - Biohazard group 0

Stoly - před a po práci **Incidur, ethanol**



Po vstupu do laboratoře či před zahájením práce prosím o mytí rukou;
test účinnosti mytí rukou



Mytí rukou před návštěvou toalety!!!

MO – Biohazard group 0

Misky s bakteriálními kmeny otvírat co nejméně
a po práci správně zavřít

Nemluvit při očkování mikroorganismů

Sterilní práce – žihání kličky v plameni kahanu..



Kahan zapnutý jen po dobu práce s ním

Popisování misek: zespodu,
svrchu – dle metody!!



Nevylévat nic do odpadu – stůl: odpadní nádobky

Prosíme neodnášet kultury!

O náplni cvičení se informovat předem
Viz Studijní materiály – prosím příprava

