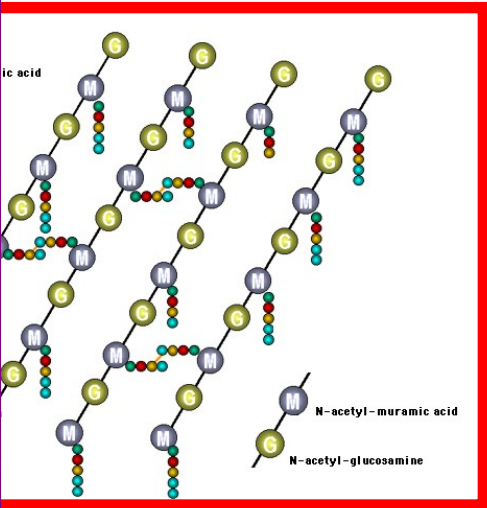
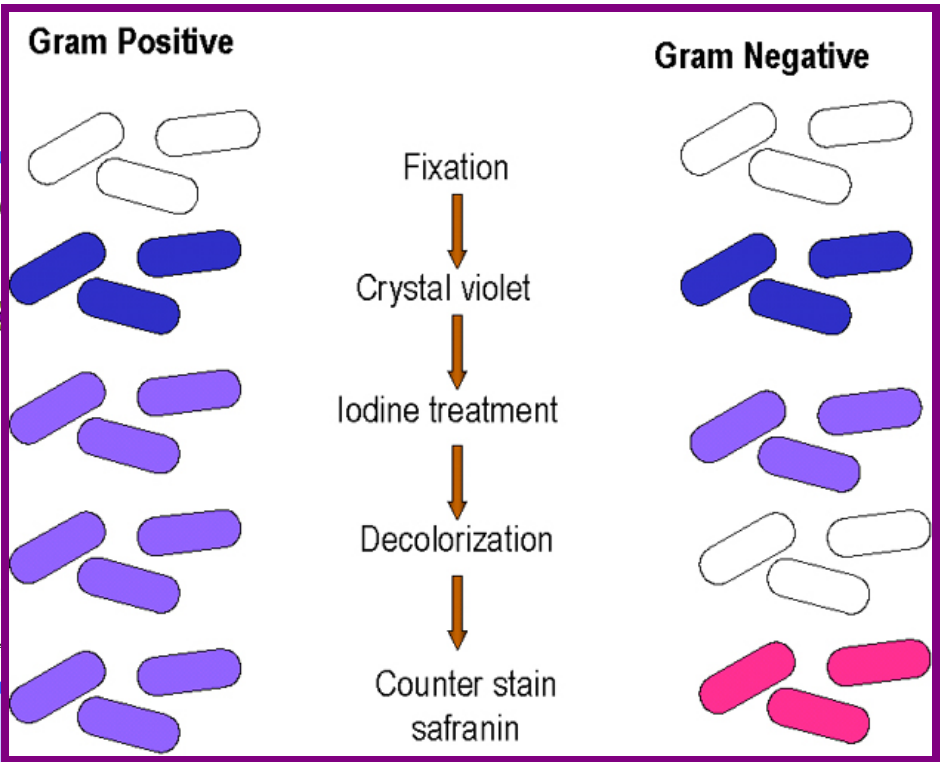
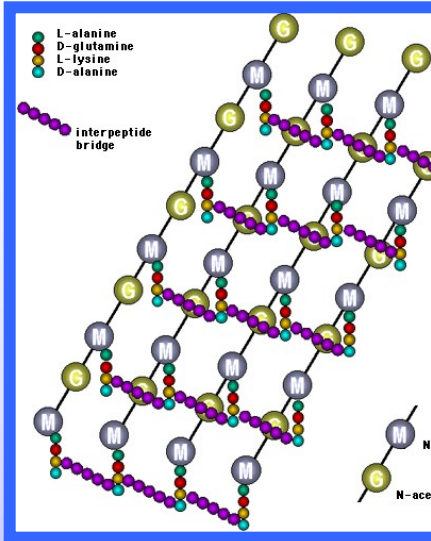
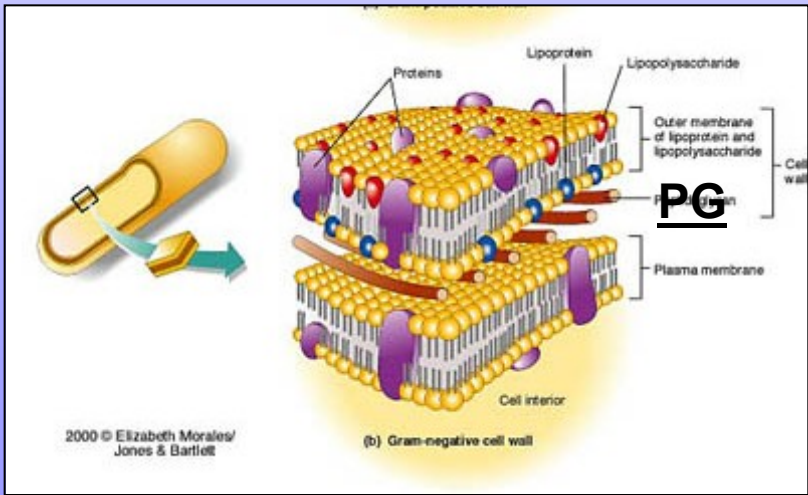
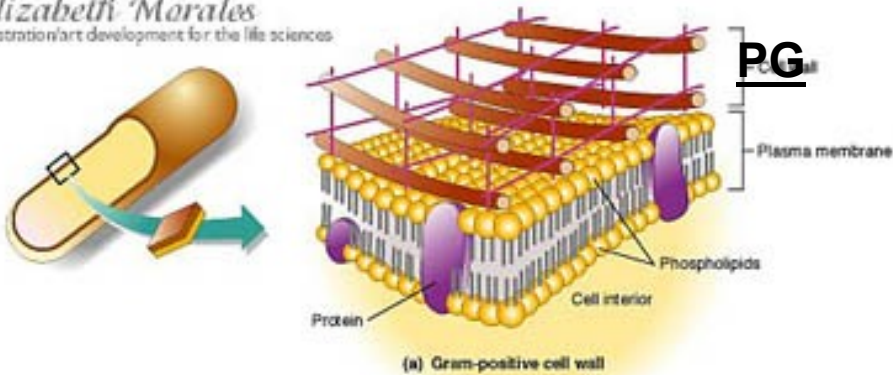


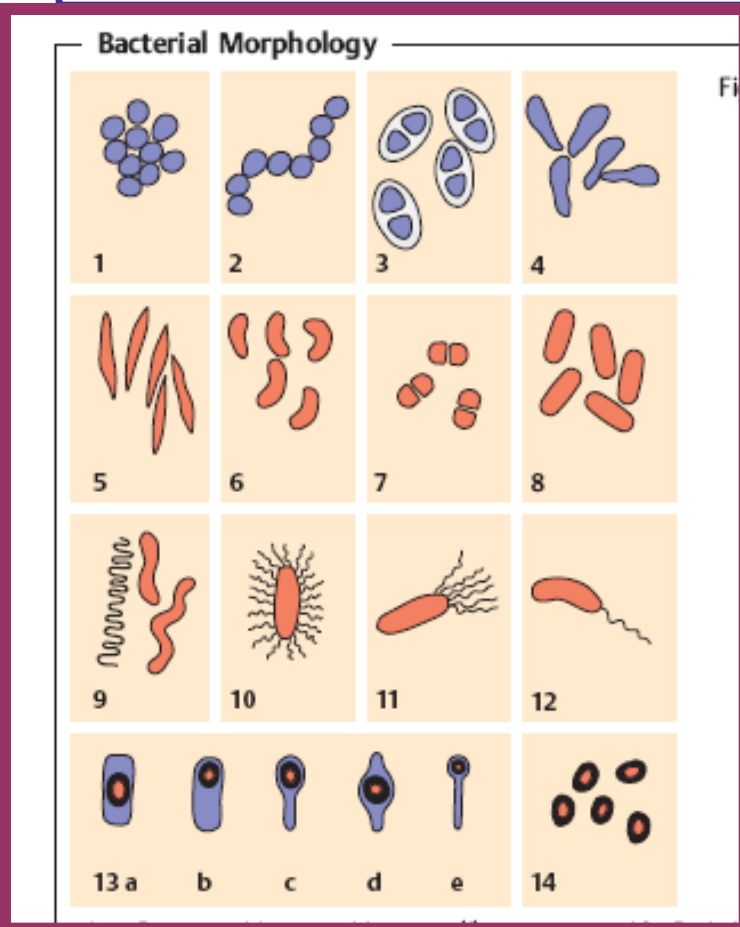
Tvary bakteriálních buněk  
Morfologie kolonií  
Barvení buněk  
Interpretace Gramova barvení



Elizabeth Morales  
 illustration/art development for the life sciences



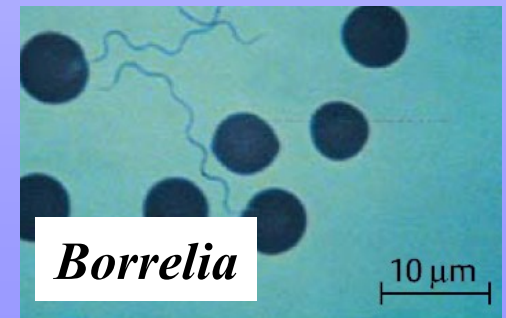
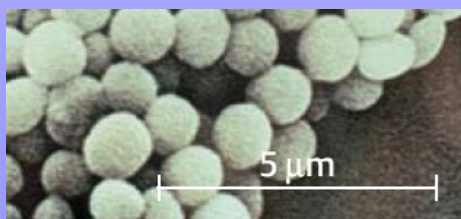
# Tvary bakteriálních buněk optimální hydrodynamické vlastnosti využití přístupných živin



poměr povrch/objem

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

- *Chlamydia* 0,3 x 0,3  $\mu\text{m}$
- *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!

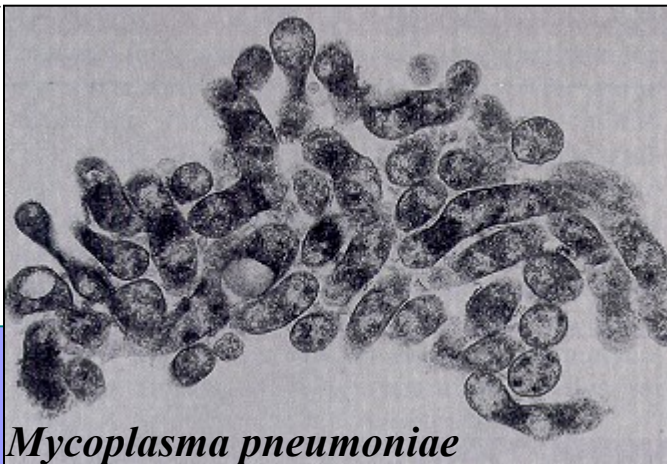
= nejmenší volně žijící bakterie

Nebezpečí: prochází  
protibakteriálními  
filtry!

0,2-0,8  $\mu\text{m}$

- bez buněčné stěny

(= amorfní a nebarvitelné na



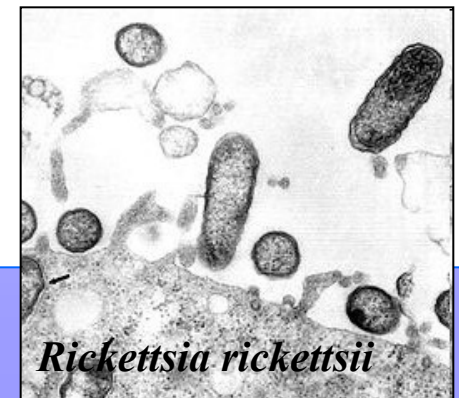
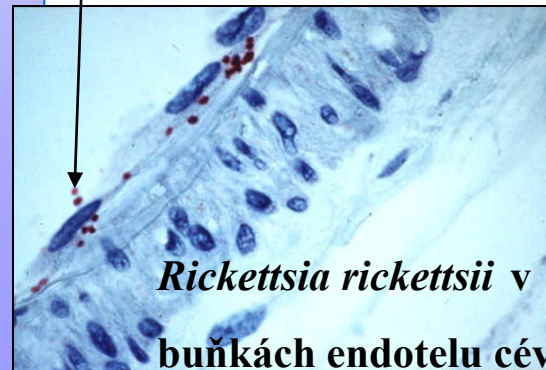
## • *Rickettsie*

Nerostou mimo hostitelskou buňku!

0,3-0,8  $\mu\text{m}$  G- koky až tyčinky

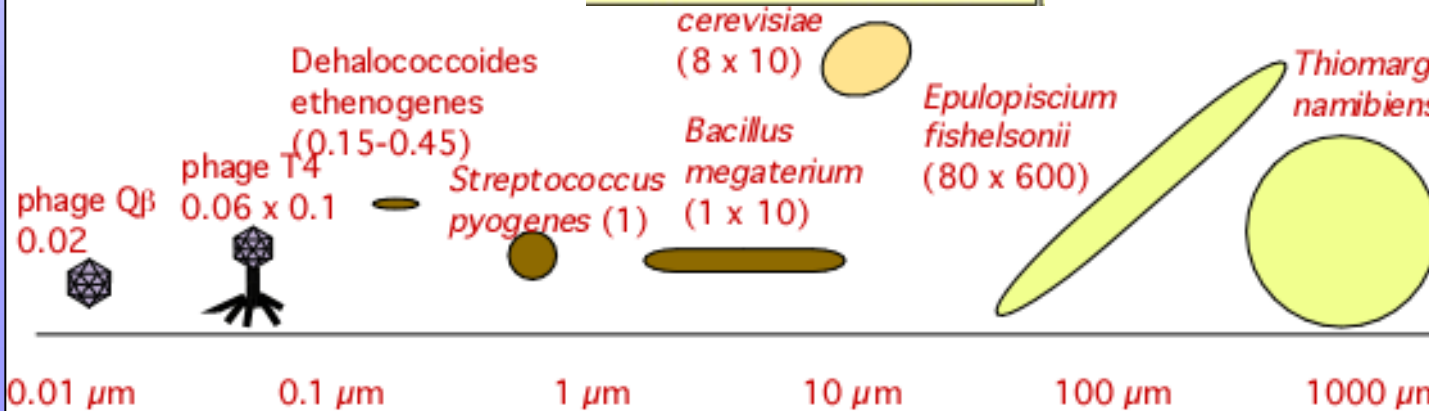
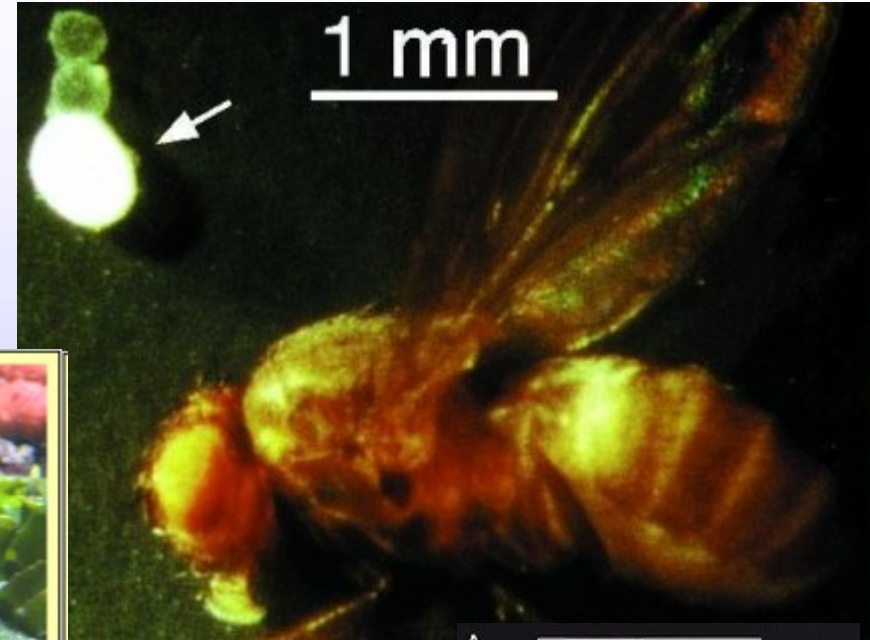
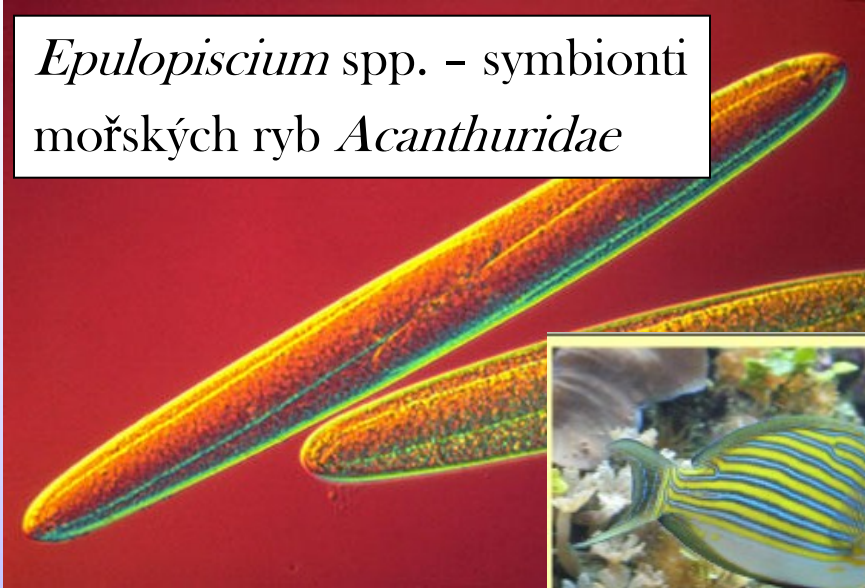
**Barví se červeně** dle Giemsky,  
podlouhlé b. polárně.

- 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*

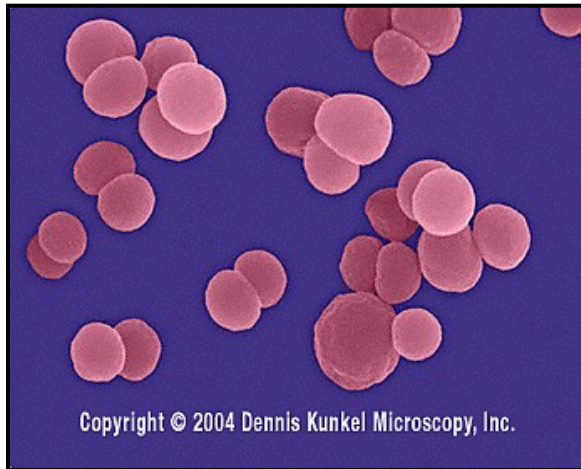
1. mykobakterie
2. corynebacterium -plectridium (ztluštění terminálně) či clostridium (ztluštění centrálně), corynebacterium mikroskopie: jednotlivě, dvojice nebo shluk.
3. aktinomycety - mikroskopie: jednotlivě, dvojice nebo shluky. U streptomycet např. čím delší kultivace tím větší pleomorfismus.

# Koky

Geneticky kódováno dělení v rovinách a odloučení samostatné buňky.

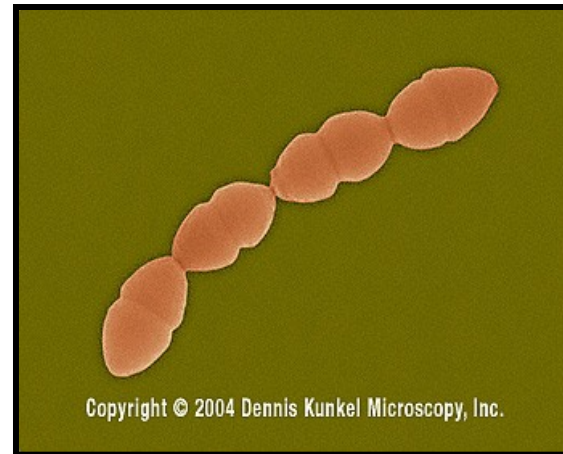
Spojení buněčnou stěnou – Van Der Waalsovy síly

## • oploštělé



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

## zašpičatělé

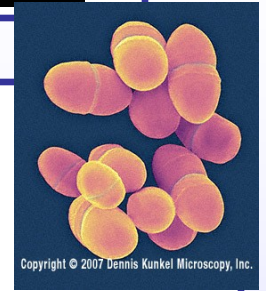


*Streptococcus pneumoniae* - Gram-positive  
Encapsulated.  
Causes (lower respiratory infection) pneumonia  
(upper respiratory infections) bronchitis,  
laryngitis, sinusitis, and otitis media.

# v závislosti na rovině dělení :

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

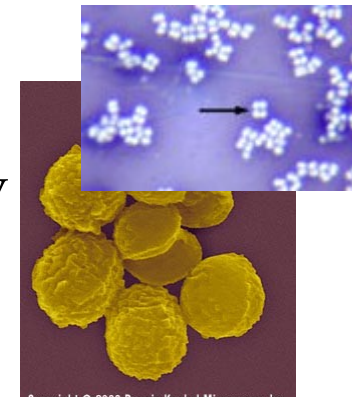
*Neisseria gonorrhoeae*, Gram-negative



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*



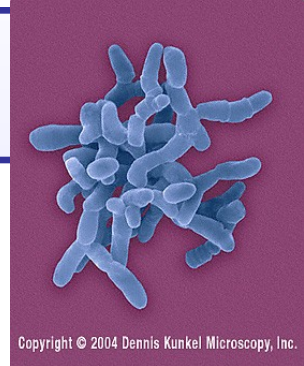
# Charakter shluků závisí na způsobu dělení bakteriálních buněk

- 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

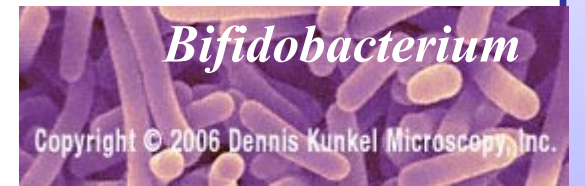


Copyright © 2004 Dennis Kunkel Microscopy, Inc.

*Mycobacterium paratuberculosis*



*E. coli*



*Bifidobacterium*

Copyright © 2006 Dennis Kunkel Microscopy, Inc.

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

krátké (kokobacily)

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

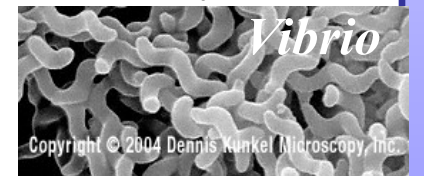
štíhlé (*Mycobacterium tuberculosis*, *Clostridium tetani*)

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.



*Vibrio*

Copyright © 2004 Dennis Kunkel Microscopy, Inc.

s rovnými až konkávními konci (*Bacillus anthracis*)

vřetenovité (r. *Fusobacterium*)

kyjovité (r. *Corynebacterium*)

pleomorfní



Copyright © 2004 Dennis Kunkel Microscopy, Inc.



*Actinomyces virosus*

Copyright © 2006 Dennis Kunkel Microscopy, Inc.

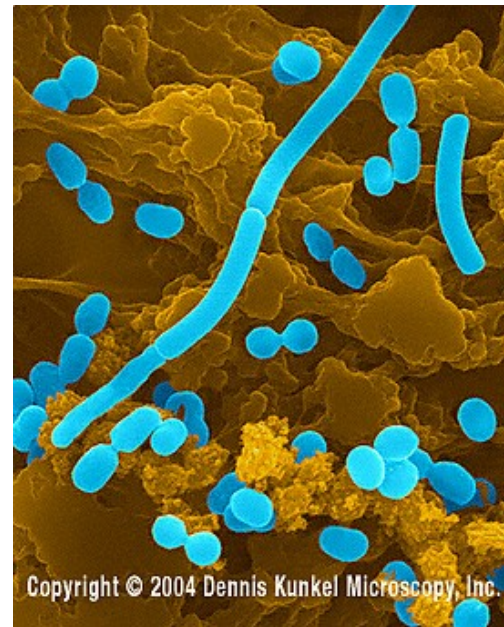
# Kokobacily

kokobacily a kokotyčky dvojice nebo shluky, nikdy řetízky

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



*Bordetella holmesii*



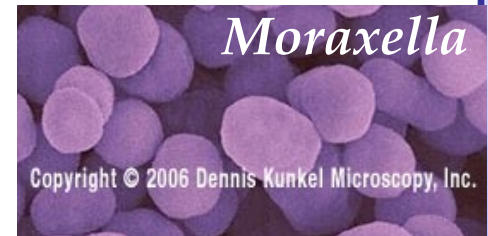
*Acinetobacter* spp.

# Tyčinky

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

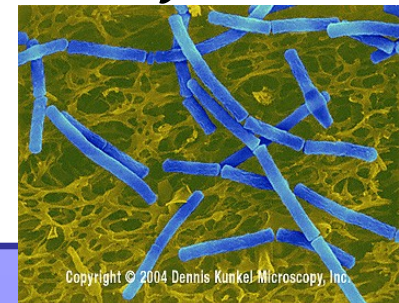
- Diplobacily:

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

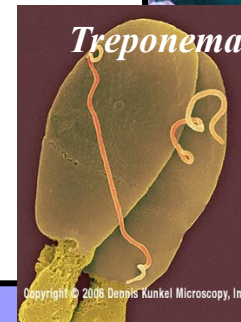
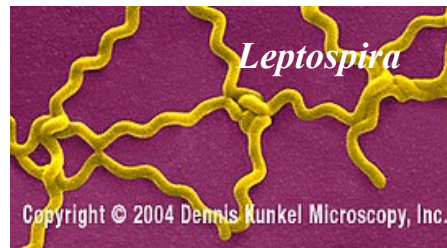
nepřavidelné (rody *Spirillum*, *Helicobacter*)

hrubé (r. *Borrelia*)

jemné (r. *Treponema*)

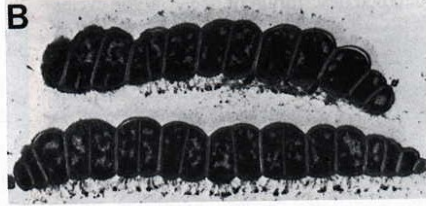
jemné se zahnutými

konci (r. *Leptospira*)

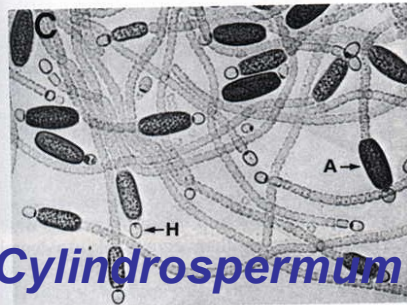




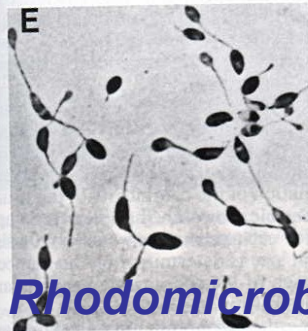
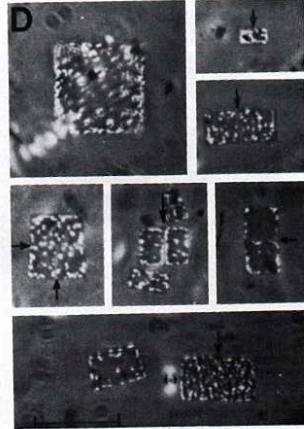
*Prosthecomicrobium*



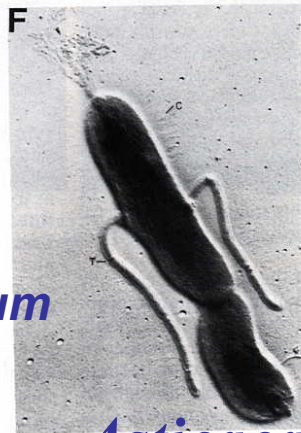
*Simonsiella*



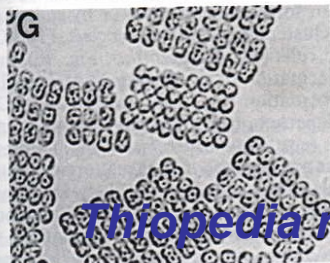
*Cylindrospermum*



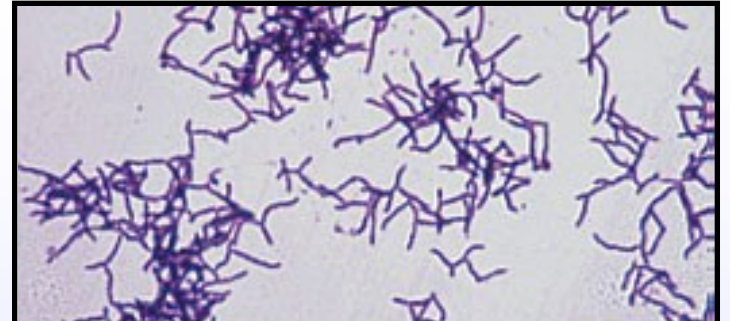
*Rhodomicrobium*



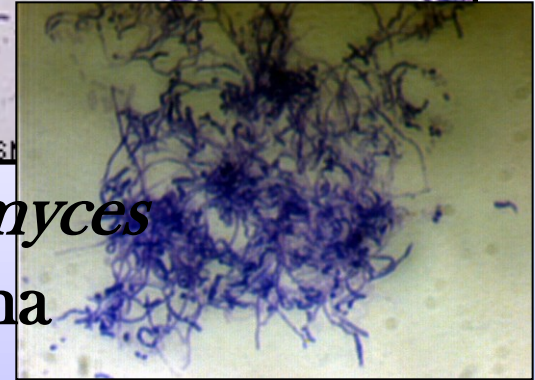
*Asticacaulis*



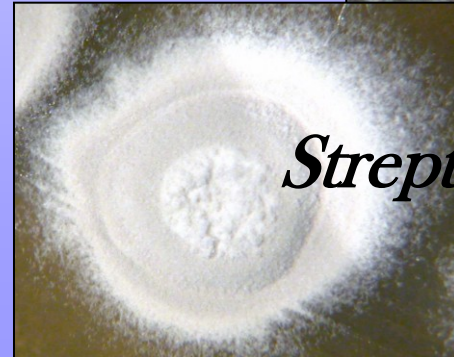
*Thiropedia rosea*



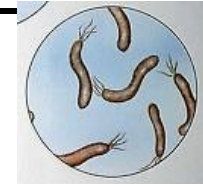
*Streptomyces*  
G<sup>+</sup> vlákna



*Streptomyces*



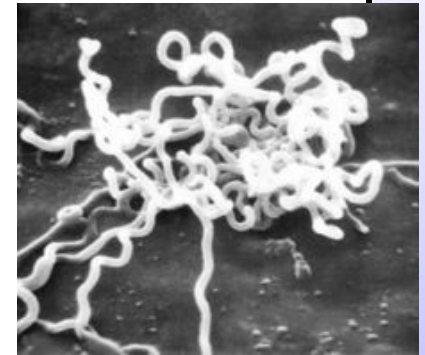
**Spirilly** – určitý a konstantní počet závitů  
(– max 5-7.) a vždy stejné stoupání



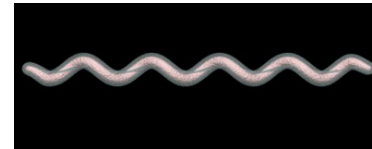
Pohyb a udržování počtu závitů vždy dle osového vlákna, závity jen v 1 rovině, relativně tenké buňky.

**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).



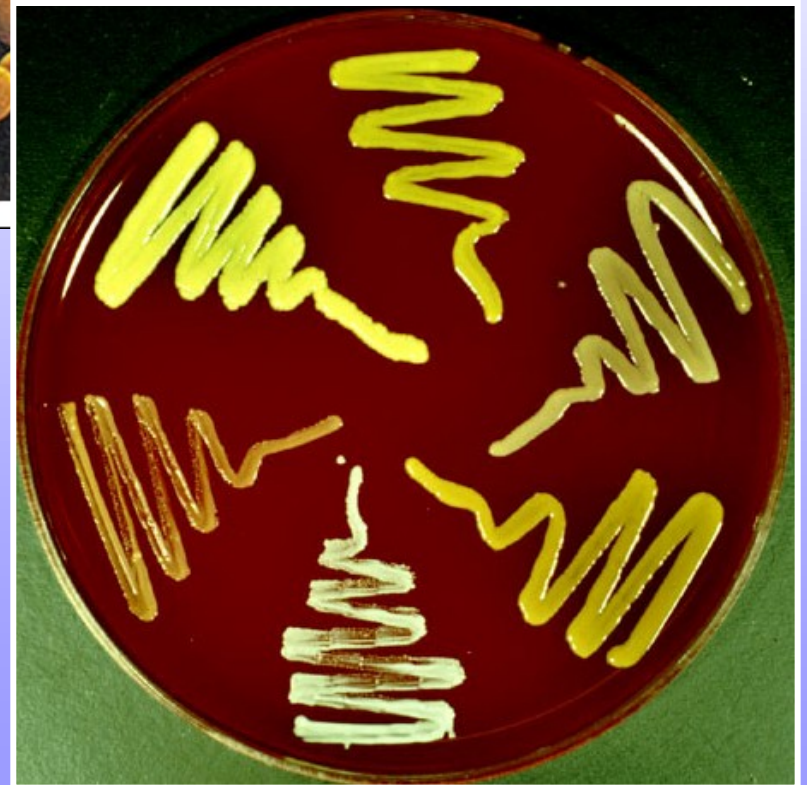
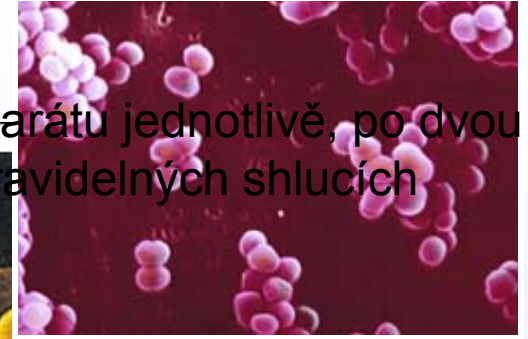
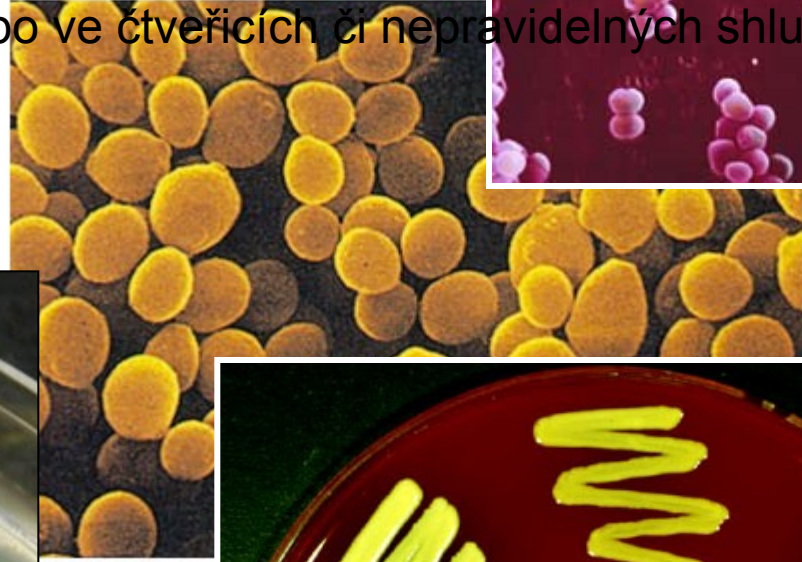
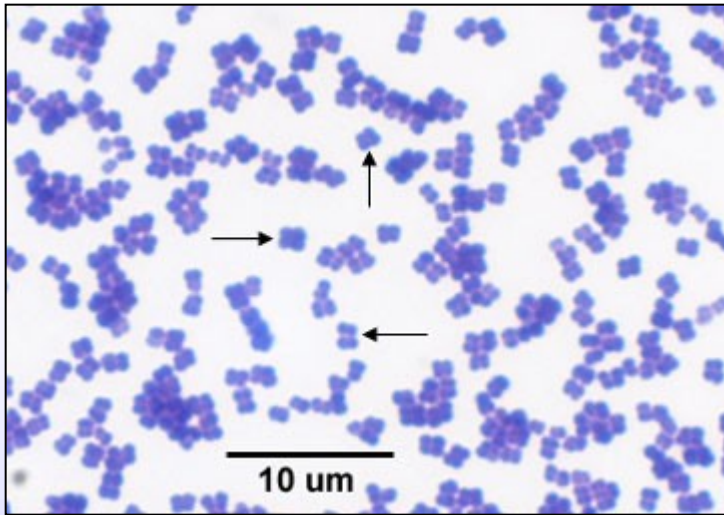
Undulující membrána – bílkovina + sacharid v 1 rovině, výlučně u vodních.



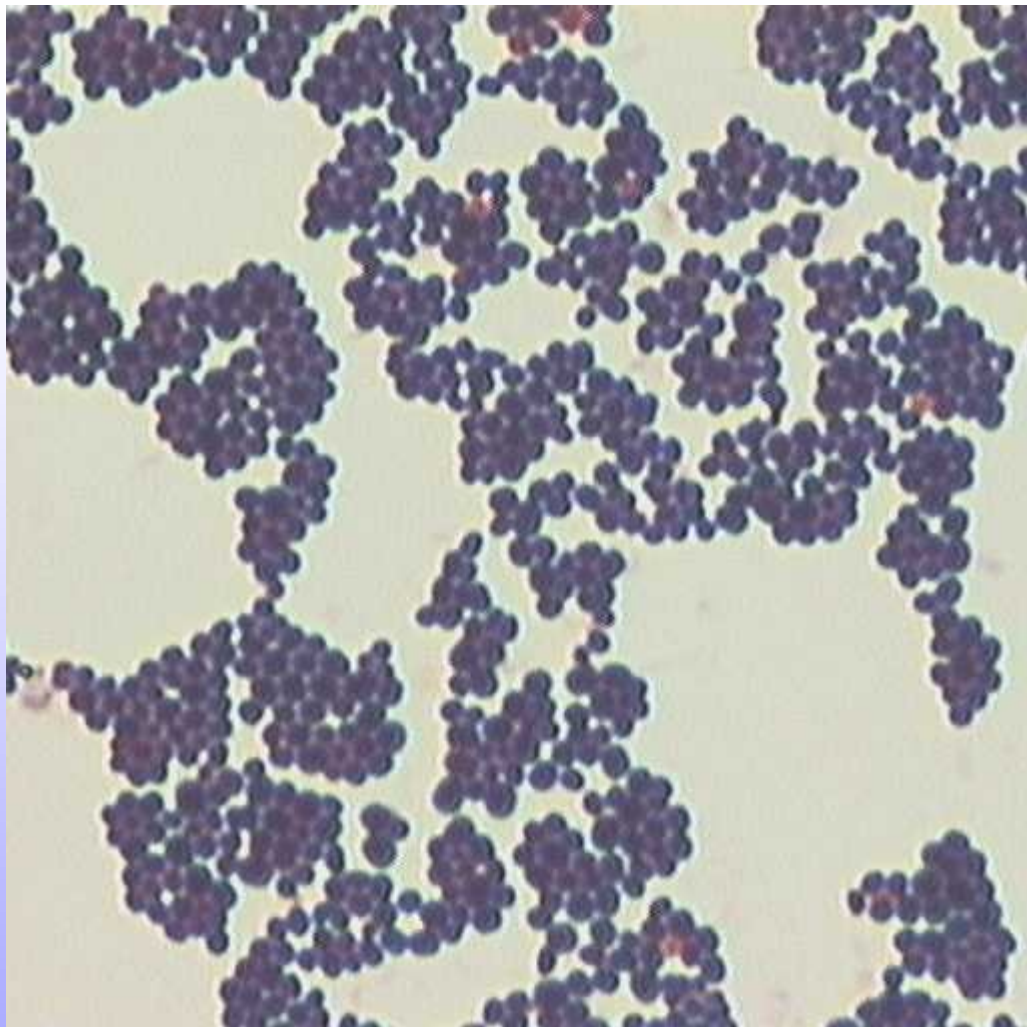
U spiril i spirochet bičíky vždy na koncích, jednotlivě či ve svazku. Pokud spojení buněk, tak háčkem, ne plochou. Pro pozorování se využívá mikroskopie v zástinu. Mikroskopie: buňky vždy jednotlivě.

# *Micrococcus*

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

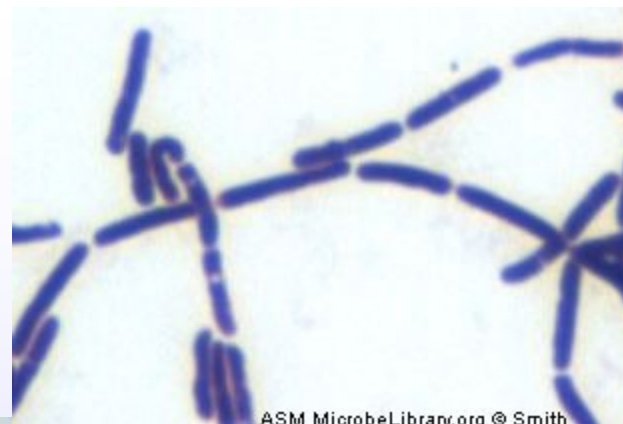






## *Kocuria*

G+ koky, po dvou, 4 nebo shluky



ASM MicrobeLibrary.org © Smith



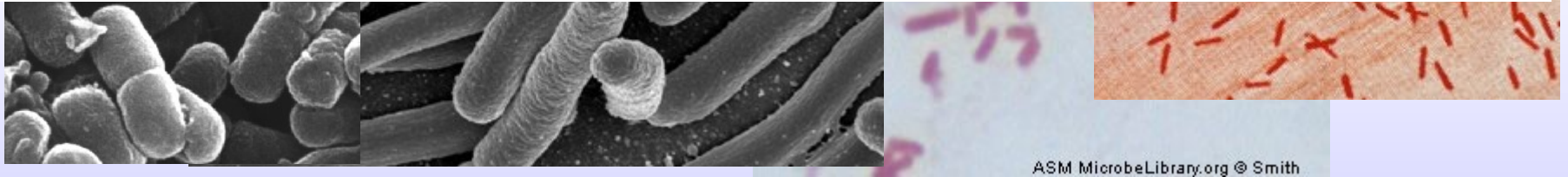
ASM MicrobeLib

## *Bacillus cereus*

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

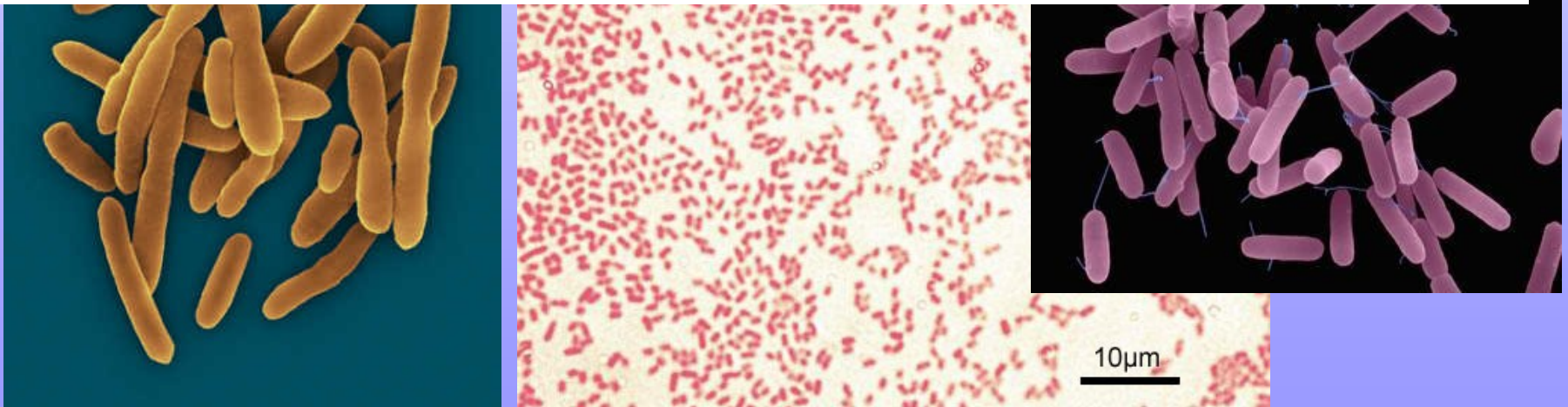


# Gramnegativní rovné tyčky Jednotlivé nebo ve dvojicích

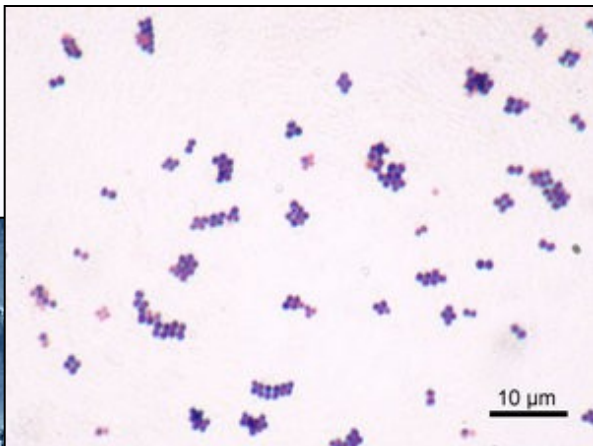


## *Pseudomonas*

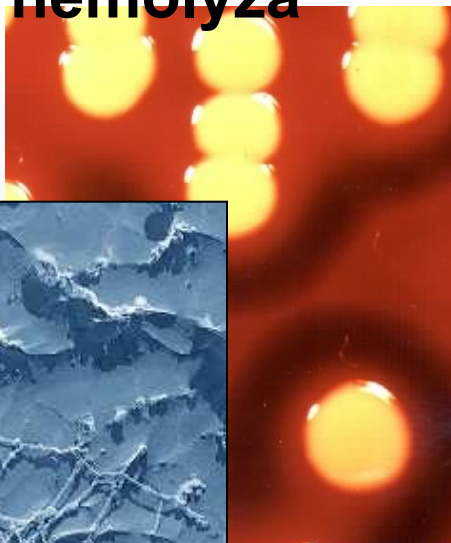
Gramnegativní rovné nebo mírně zakřivené tyčky



**hemolýza**



**Krevní agar s 10% NaCl**



**Bílé nazlátlé velké kolonie**



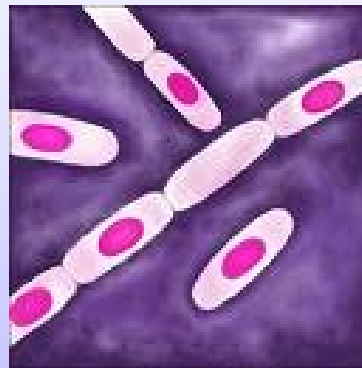
**Mikroskop:  
typické  
hrozníčky, shluky**



**Bakterie rodu Staphylococcus**

# Rod *Bacillus* - různá morfologie různých druhů

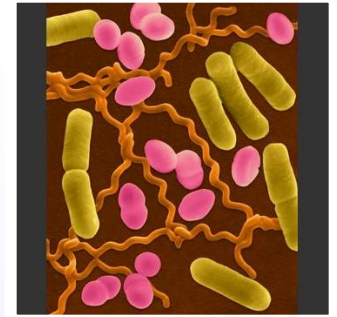
## *Bacillus cereus*



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<sup>+</sup> i G<sup>-</sup>)
- 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

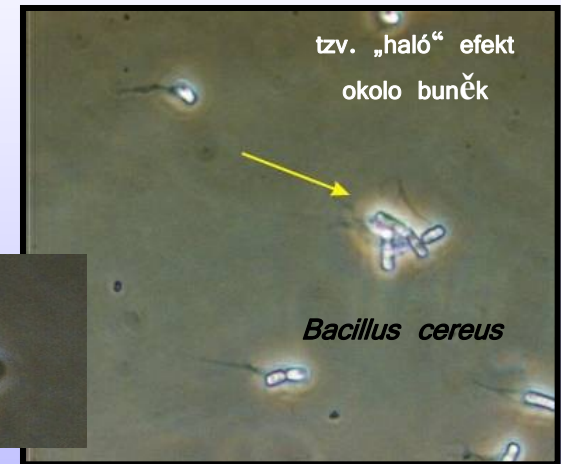
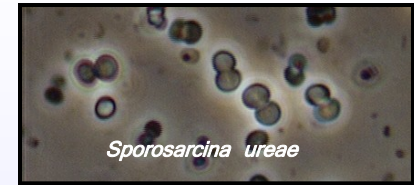
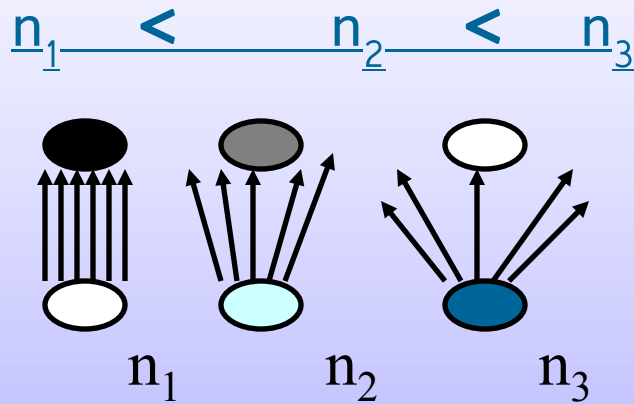
- *Borrelia burgdorferi* (fig [1](#), [2](#))
- *Borrelia recurrentis* (fig [1](#))
- *Bartonella henselae* (fig [1](#), [2](#))
- *Chlamydia trachomatis* (fig [1](#), [images of elementary bodies](#), [images of reticulate bodies](#))
- *Chlamydophila pneumoniae* ([images of elementary bodies](#), [images 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<sup>+</sup> koků



# Fázový kontrast



## možnost pozorování živých objektů v nativním stavu bez barvení

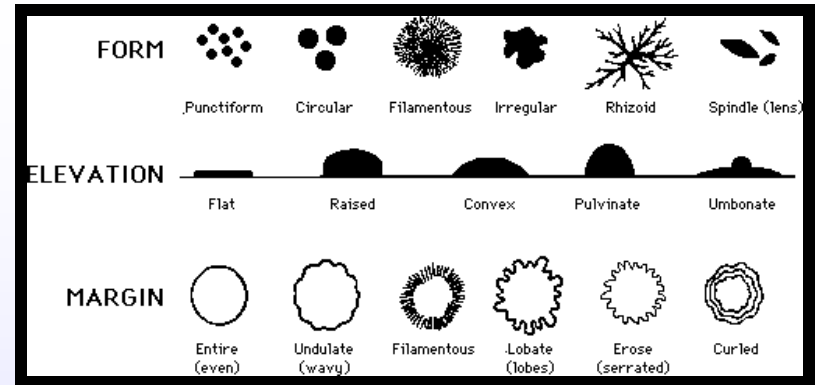
- Různé části preparátu - různý index lomu  
- ohyb paprsků

# 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.



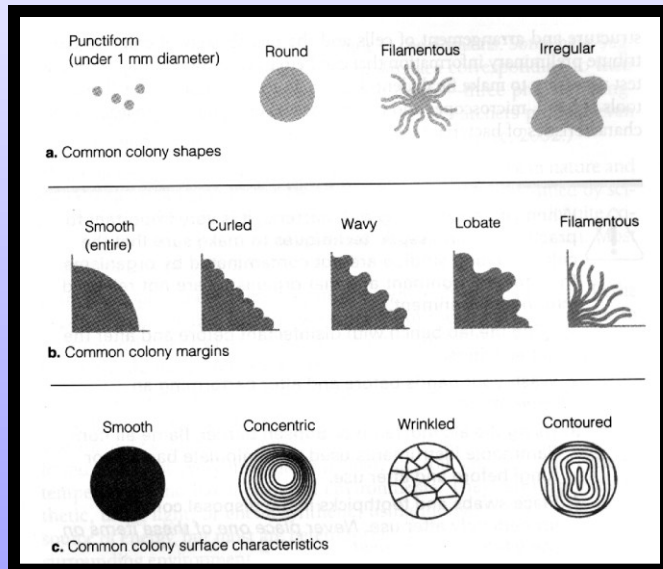
**Velikost** (průměr; mm)

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

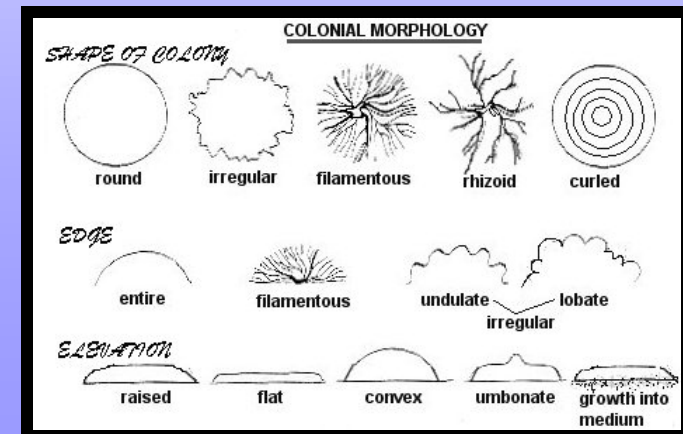
Profil – kolonie vyvýšená, plochá, pupkovitá, miskovitá ...

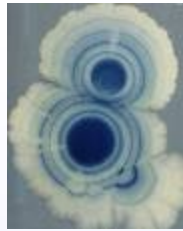
Okraje – pravidelné, filiformní, laločnaté, okrouhlé ...

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

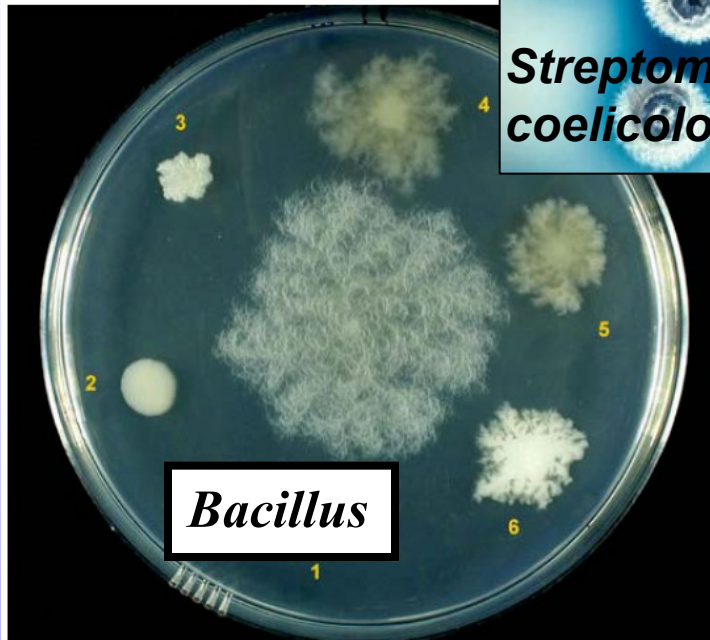
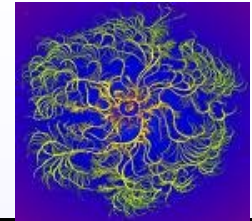
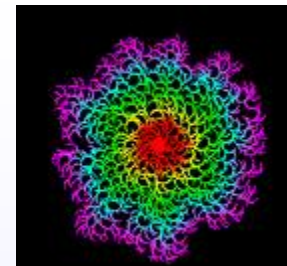


Transparence  
 Vůně, zápach  
 Tvorba mycelia  
 Změny media  
 Barva  
 Konzistence



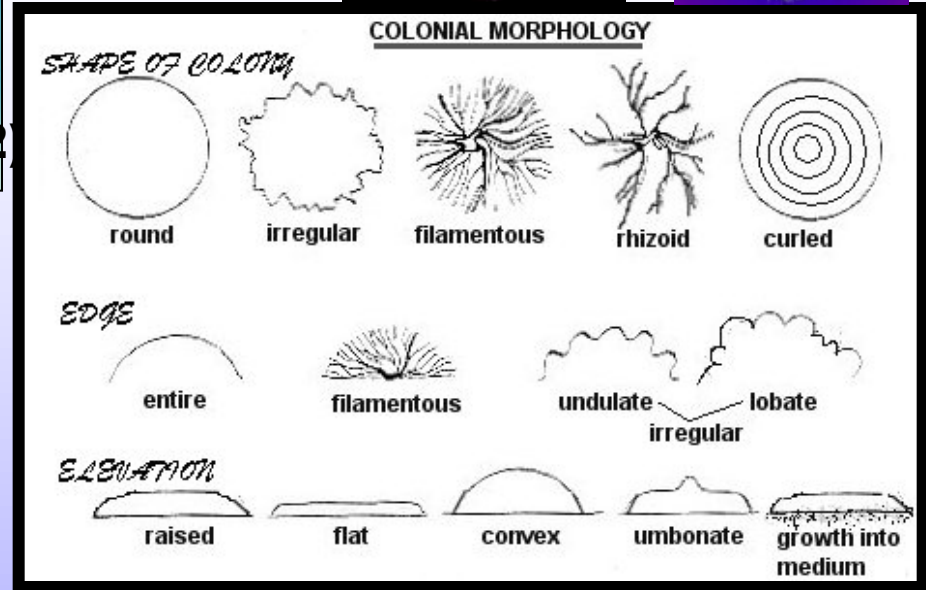


*Streptomyces coelicolor* A3(2)



*Bacillus*

Figure 4



*Nocardia farcinica*



*Pseudomonas*  
Mutace- PS

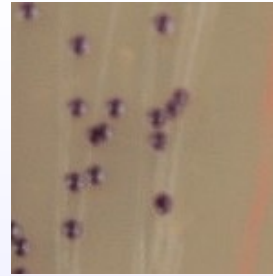
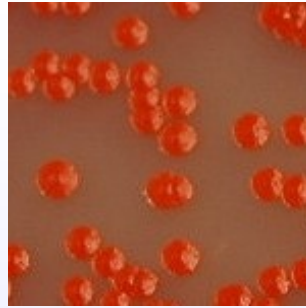


*Streptomyces*



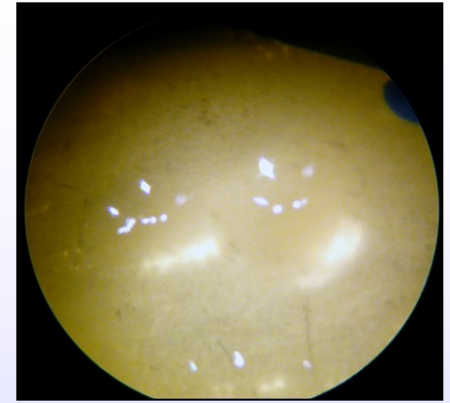


*Serratia* - knoflíkový profil

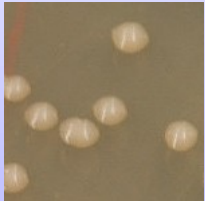


*Chromobacterium violaceum*

Kulaté, vypouklý profil,  
pravidelné okraje



Průhledné  
*Azotobacter vinelandii*



*Klebsiella ozanae*  
Kulaté kolonie

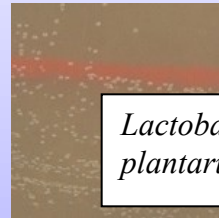


*Enterococcus faecalis*

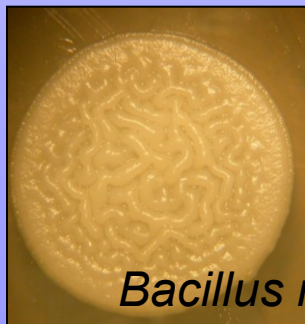
Kulaté, vypouklý profil,  
pravidelné okraje

**Drobné – neúčinný metabolismus**

Kultivace 3-4 dny



*Lactobacillus plantarum*

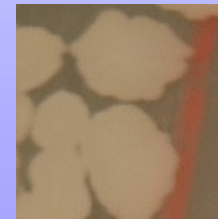


*Bacillus megaterium*



*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 (IJSB )
- 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.who.edu/oceanus/viewArticle.do?id=2539>
- <http://www.geocities.com/CapeCanaveral/3504/gallery.htm>