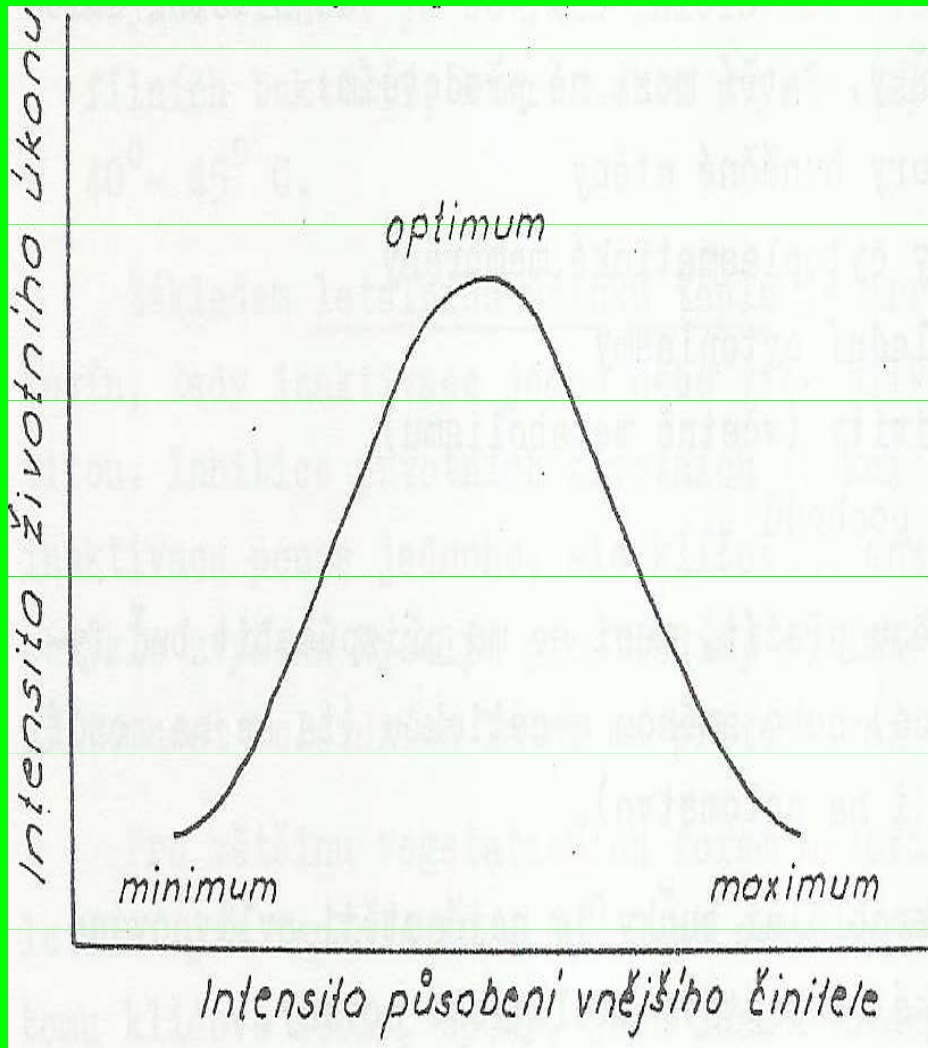


Mikroorganizmy a vnější prostředí

Mikroorganizmy a vnější prostředí

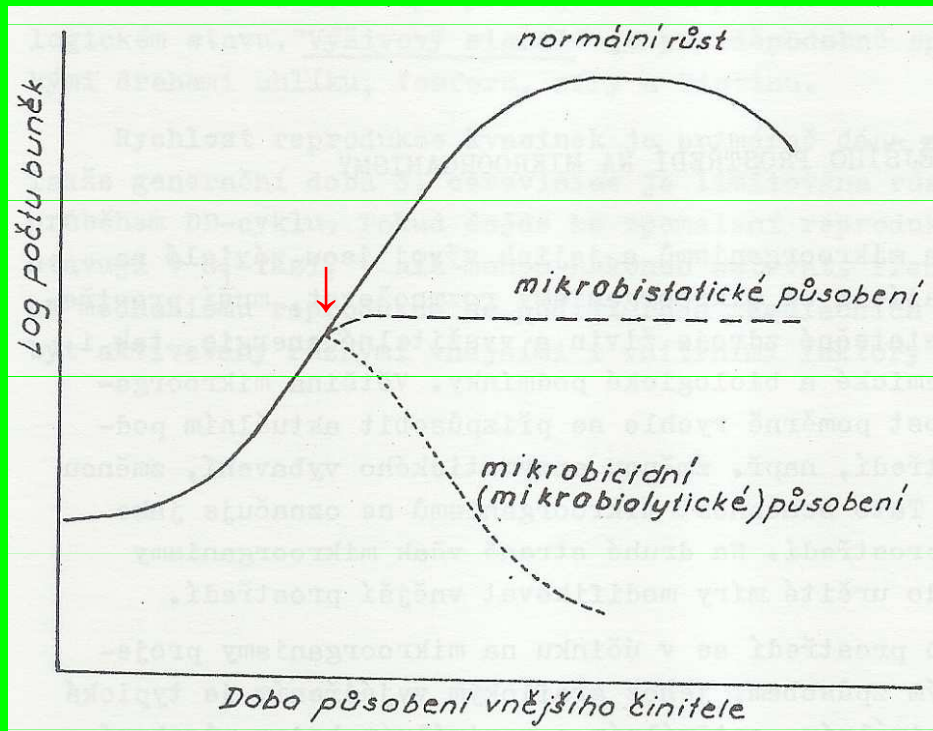
- Životní aktivita mikroorganismů a jejich vývoj jsou závislé na životních podmínkách – vnějším prostředí
- Vnější prostředí musí obsahovat dostatečné zdroje živin, využitelné zdroje energie a vhodné fyzikální, chemické a biologické podmínky
- Většina mikroorganismů se dokáže poměrně snadno přizpůsobit 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

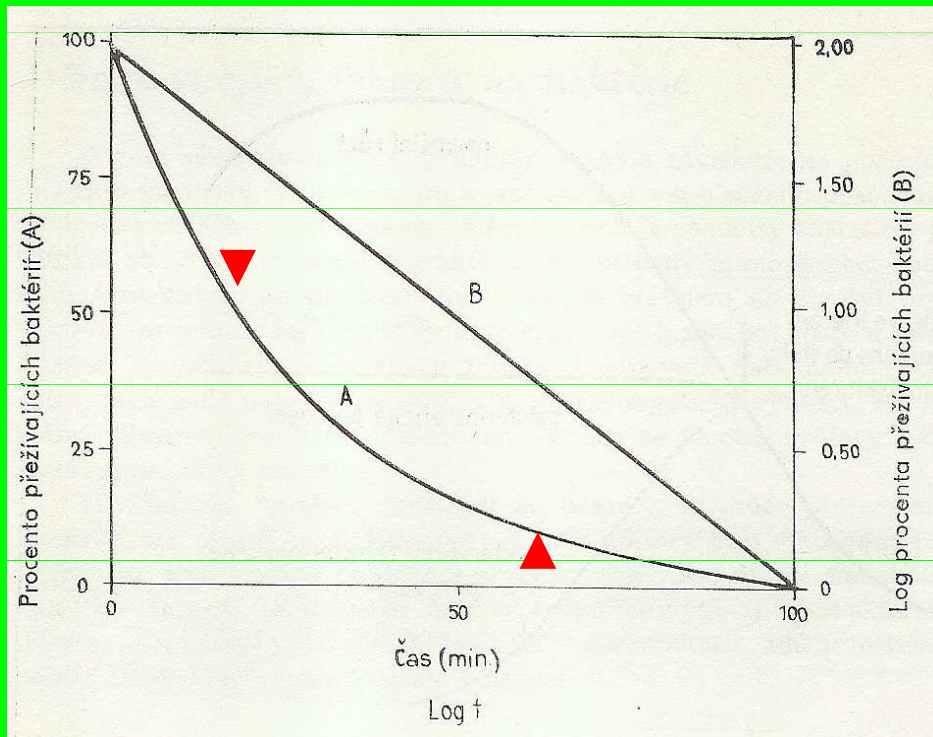
Mikroorganizmy a vnější prostředí



- **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 ireverzibilní 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

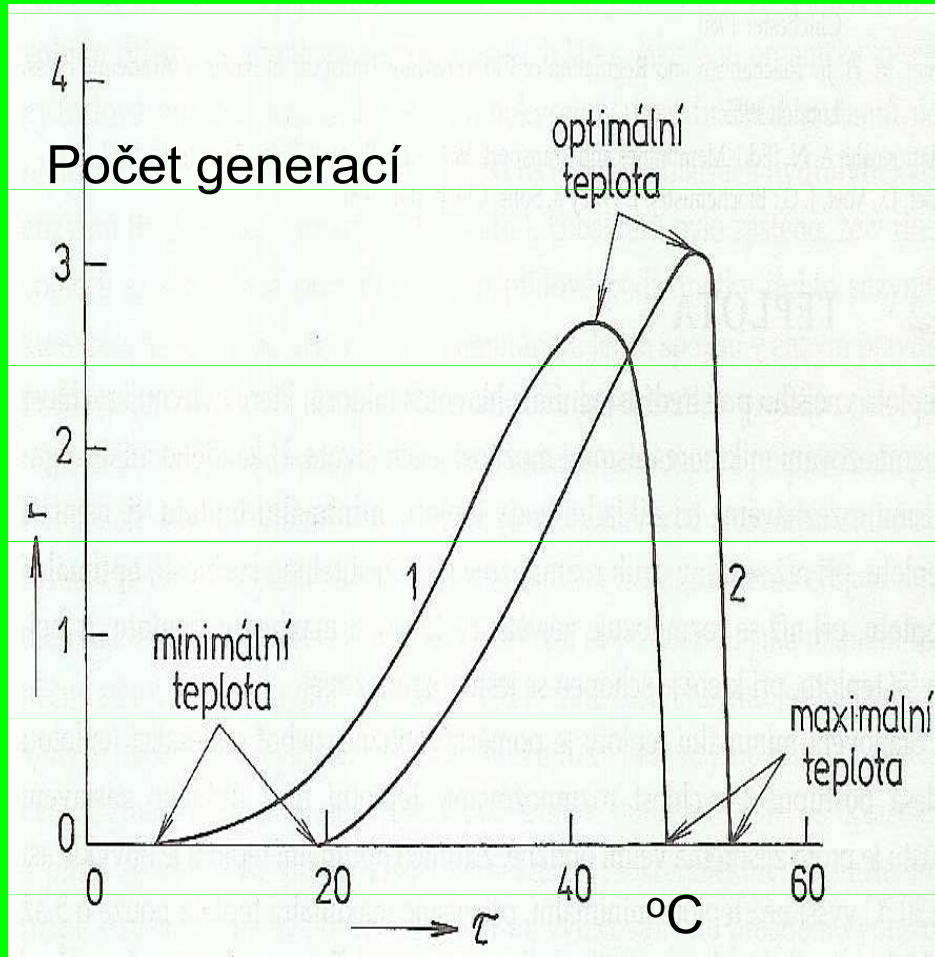
- Chemické faktory

- *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 hygroskopickou (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⁻ 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

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>										

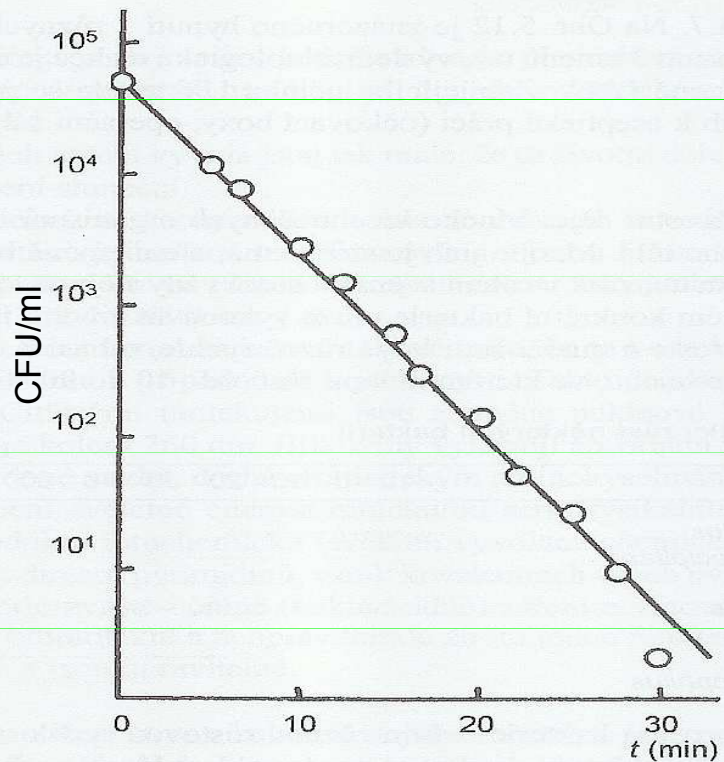
- **Psychrofilní** – rostou při teplotách pod +20°C (0 – 5). Výskyt – oceány, hluboká jezera, studené prameny. Některé organizmy mohou růst i při -10°C. V laboratorních podmínkách se snadno přizpůsobí vyšším teplotám
- **Mezofilní** – růst při +20 – 40 °C. Většina organismů saprofytických i parazitických
- **Termofilní** – teplota růstu +30 – 90 °C ,v chlívské mrvě, kompostu. Termofilní *Euryarcheota* mají maximální teplotu pro růst vyšší než 113°C (*Pyrobolus*)
- **Extremně termofilní** rostou v horkých hlubinných mořských pramenech i při teplotě +350 °C
- Teplotní šok
- Chladový šok (při teplotách -15 až 20°C **přežívají** bakterie více než rok)

Fyzikální faktory – letální účinek tepla

- Mechanismus spočívá v denaturaci bílkovin a s ní spojené inaktivaci jednoho nebo více enzymů, které nemusí být životně důležité
- 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, ...)

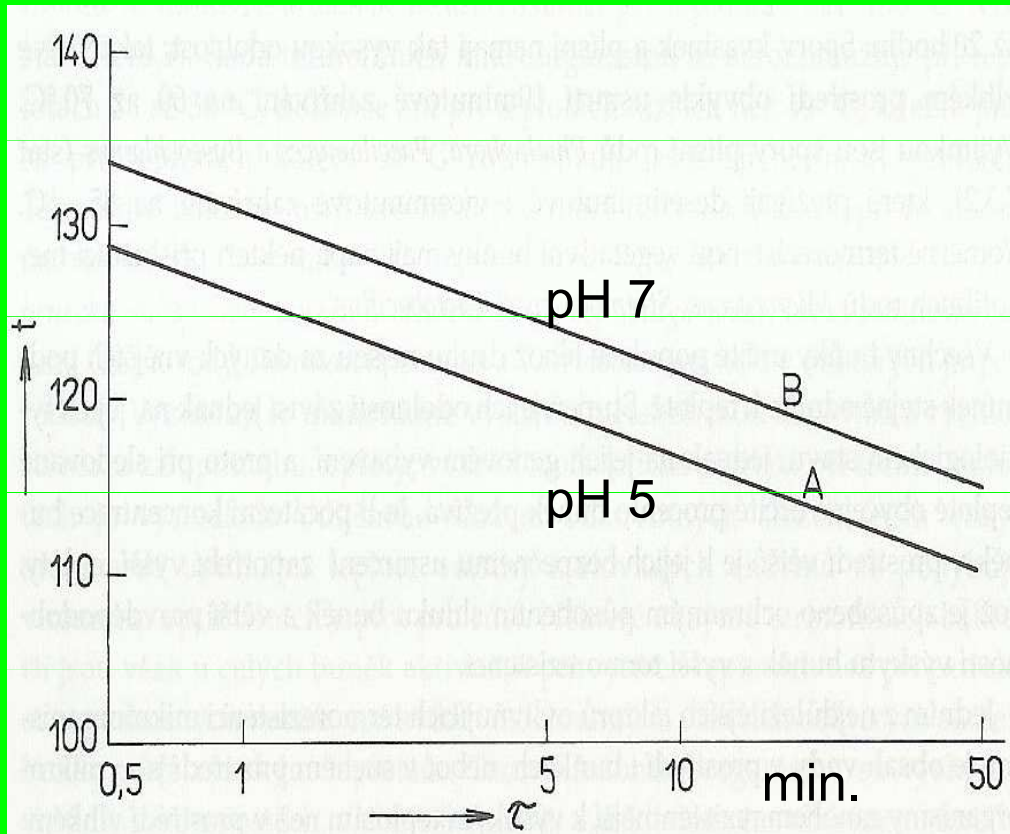
Fyzikální faktory – sterilizace teplem

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



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

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

Přežívání spor *C. botulinum*

t – teplota sterilizace- °C

τ - doba sterilizace (min.)

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 a doba pasterace je závislá na produktu

Fyzikální faktory – pasterace

- Pasterace mléka
 - dlouhá - 61,6 °C 30 minut - šetrná
 - krátkodobá - 71,5°-74 °C 15-40 sekund
 - vysoká mžiková - 85 °C 1-5 sekund
 - legislativní 72 °C 15 sekund
- Další ošetření mléka
 - - ESL - mléko s prodlouženou trvanlivostí (kombinovaná metoda do 100 °C)
 - - sterilace - zahřátí mléka 30minut na 100 °C v uzavřených nádobkách
 - - UHT - 135-150 °C na zlomek sekundy
- Pasterace udrží mléko trvanlivé v rámci dnů
ESL týdnů, sterilace a UHT měsíců

Fyzikální faktory – pasterace

- **Pasterace piva**
- pivo je pasterováno dvěma způsoby dle typu balení
- pro sudy a umělohmotné láhve se upravuje předem tzv. bleskovou pasterací - tekutina se zahřeje na 30 až 60 sekund na teplotu 72 °C (vhodné je snížení kyslíku na minimum)
- plechovky a skleněné láhve se upravují tzv. tunelovou pasterací, kdy se naplněné a uzavřené obaly umístí na 10 až 20 minut do komor, kde se zahřejí obvykle na 60 °C
- často se pasterace nahrazuje filtrací přes polypropylenovou membránu

Fyzikální faktory – osmotický tlak

- Tlak mezi vnějším a vnitřním prostředím buňky dosahuje 0,5 až 2,0 MPa. 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 **plazmolýze** – 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

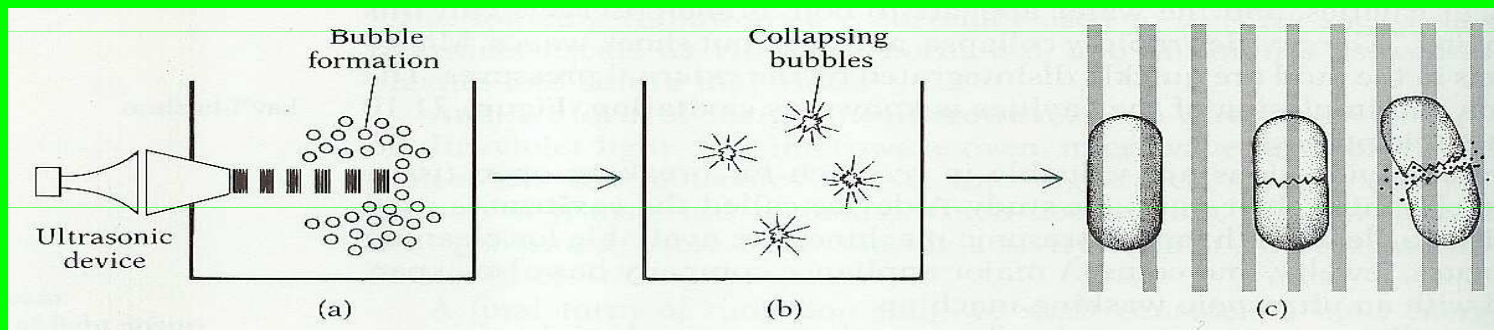
- Většina mikroorganismů žije za normálního atmosférického tlaku. Běžným bakteriím zvýšený tlak vadí nepatrně – do 10MPa (100 atm) neovlivňují vůbec životní projevy
- Tlaky 10 – 50 MPa zastavují růst i množení.
- Barotolerantní bakterie – v oceánech do hloubky 4000 m
- Barofilní bakterie – hloubky větší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

Fyzikální faktory – ultrazvuk

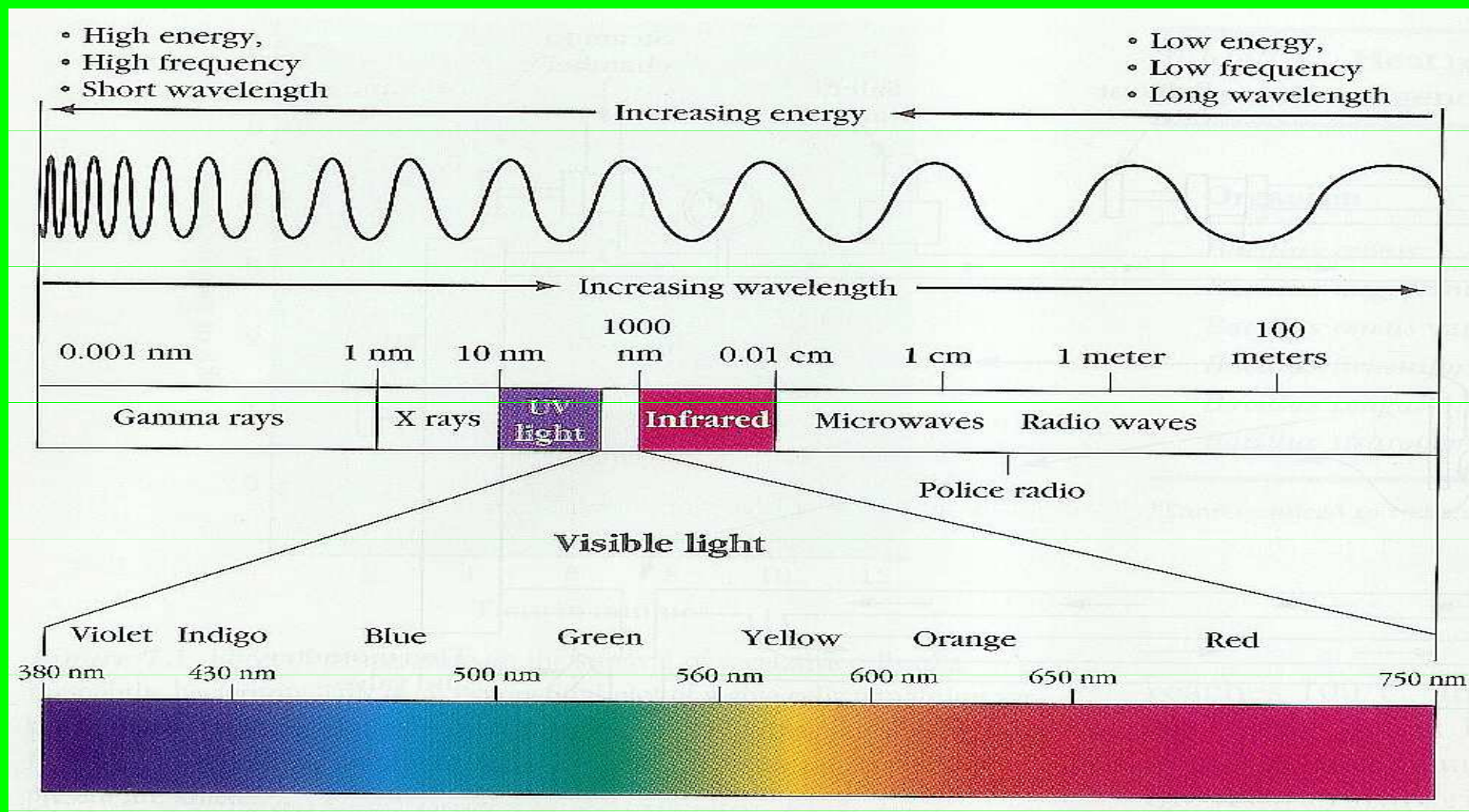
- **Ultrazvuk** je akustické vlnění, jehož frekvence se pohybuje kolem 20kHz. Někteří živočichové část ultrazvukového spektra vnímají a případně i vydávají (delfíni, psi, netopýři) a využívají jej k běžné komunikaci nebo echolokaci
- ultrazvuk méně ovlivněn ohybem. Výrazný je jeho odraz od překážek, absorpce v plynech. Málo je pohlcován kapalinami a pevnými látkami. Absorpce narůstá s frekvencí ultrazvuku (ve vzduchu je absorpce frekvence 50 kHz jen okolo 1dB na metr, ale frekvence 1 MHz je absorbována více než 100 dB na metr)
- Ultrazvukové vlnění se získá periodickým nabíjením destičky vhodného materiálu (např. křemene, syntetické látky), kdy nastává elektrostriktce - vlivem el. napětí se materiál smršťuje a rozpíná (deformuje). Tím vzniká mechanické vlnění. Destičky mohou být umístěny např. pod dnem ultrazvukové vany a vysílají své vlnění směrem k hladině, kde se část vlnění odráží zpět ke dnu (ultrazvukové vany)

Fyzikální faktory – **ultrazvuk**

- Zvukové vlny o frekvenci vyšší než 24kHz s intenzitou kolem 10 W/cm²
- **Kavitační ultrazvuk** – uvolňování plynů rozpuštěných v kapalině (prostředí, základní cytoplazma)
- 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

- **Rozdělení záření**
- Záření probíhá formou **vlnění** nebo **pohybem částic**
- Obecně záření vykazuje jak vlnový, tak částicový charakter. Obvykle je však záření studováno z určitého hlediska, kdy převažuje buď vlnový nebo částicový charakter

Fyzikální faktory – záření

- **Vlnění**

- Charakter záření je dán vlastnostmi daného vlnění:
vlnovou délkou, amplitudou, polarizací atd.

Ideální je **monochromatické záření** - pouze jedna vlnová délka

- Vlnění

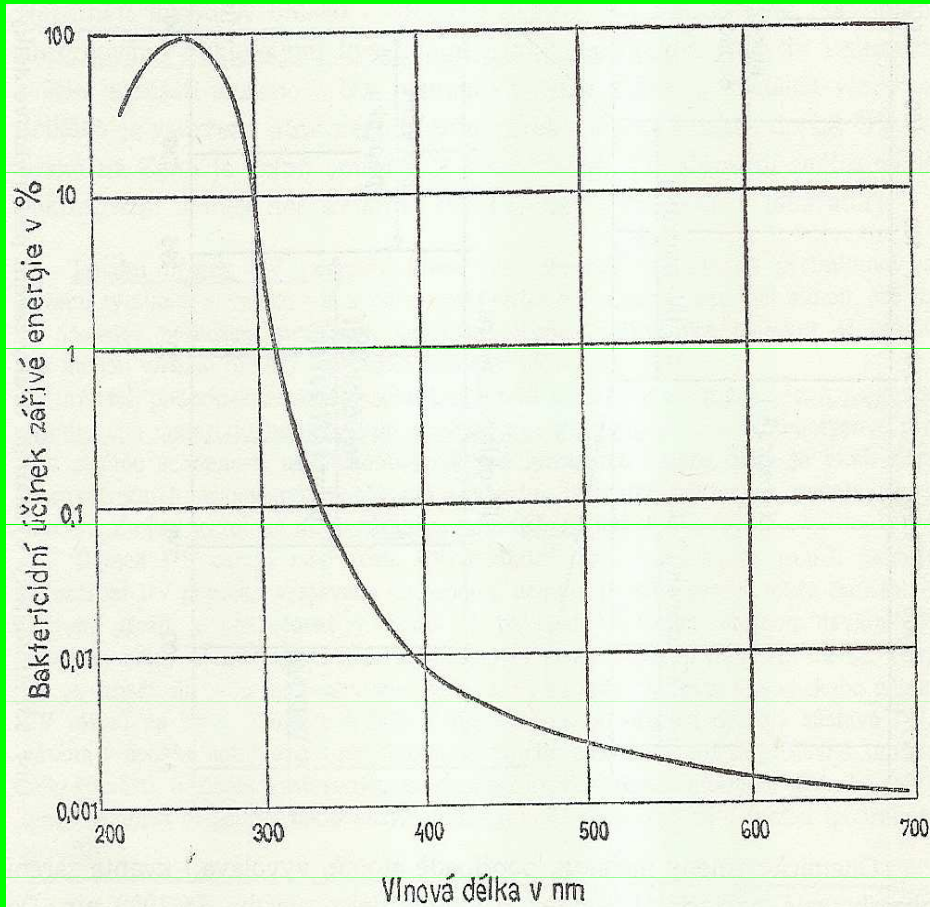
akustické vlnění - zvláštní případ mechanického vlnění

elektromagnetické vlnění - šíření elektromagnetického pole (vychází z Maxwellových rovnic)

Fyzikální faktory – záření

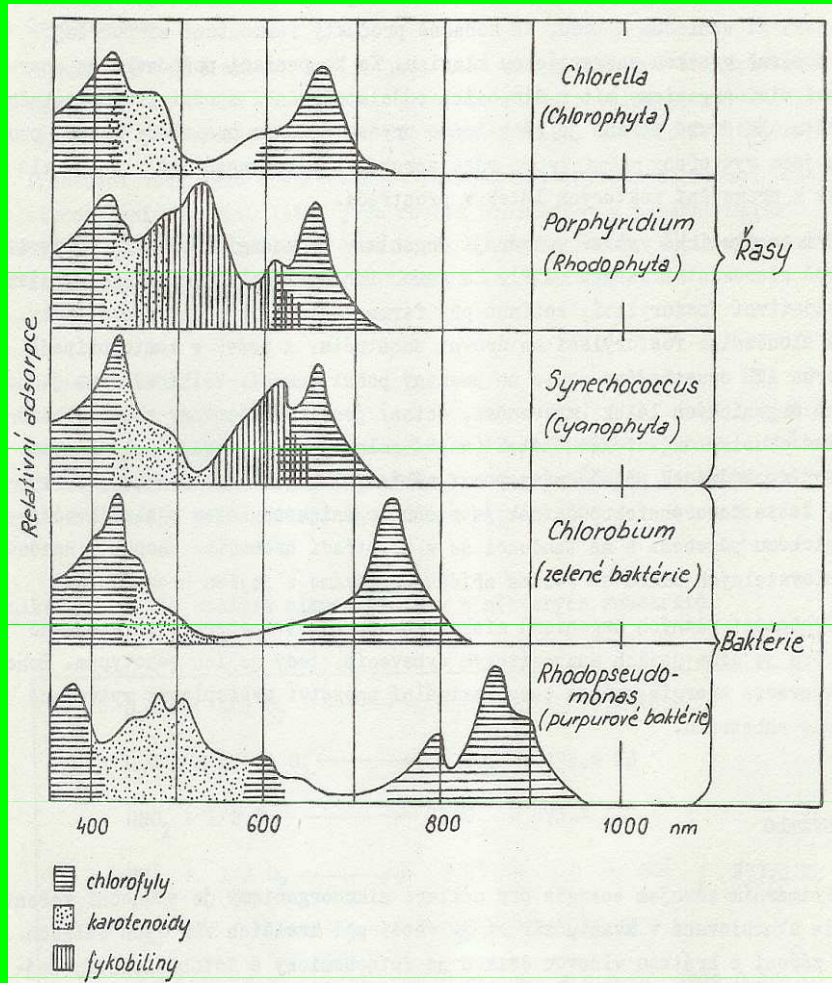
- **Korpuskulární (částicové) záření** – proud částic (uspořádaný pohyb velkého množství částic)
- částicové záření (např.)
- záření alfa – proud alfa částic, jader atomů helia
- záření beta – proud elektronů a pozitronů
- elektromagnetické záření
 - záření gama, ultrafialové záření, ionizující záření, tepelné záření, rentgenové záření, infračervené záření
- kosmické záření - proud velmi energetických částic přicházející ze vzdálených oblastí vesmíru
- reliktní záření - zbytkové záření pocházející z raného období po velkém třesku
- sluneční záření – záření přicházející ze Slunce
- světelné záření – někdy se projevuje jako vlnění a v někdy jako proud částic

Fyzikální faktory – záření



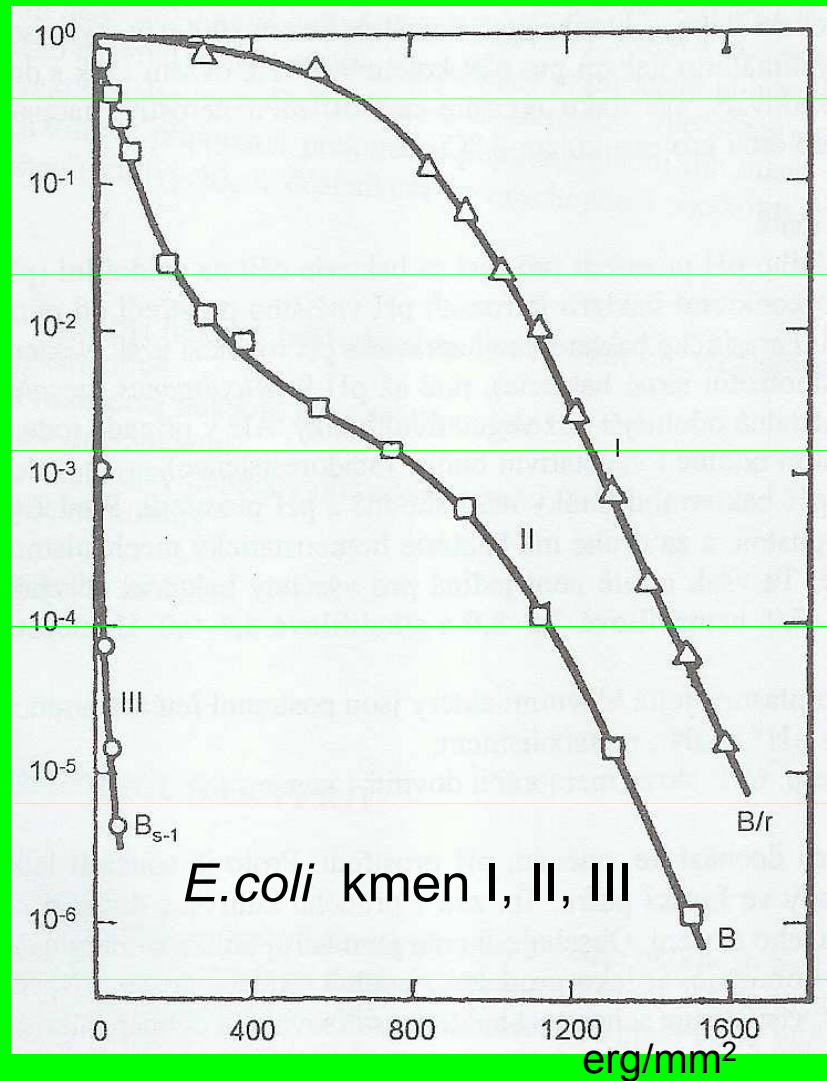
- Na mikroorganismus působí škodlivě každé záření, které je buňkou adsorbováno a vyvolává v ní chemické změny
- Míra účinku je závislá na množství získané energie – kvantu
- Energie ve světelném kvantu nepřímo závisí na vlnové délce
- Chemické změny molekul nebo atomů, vyvolávají kvanta o vlnové délce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

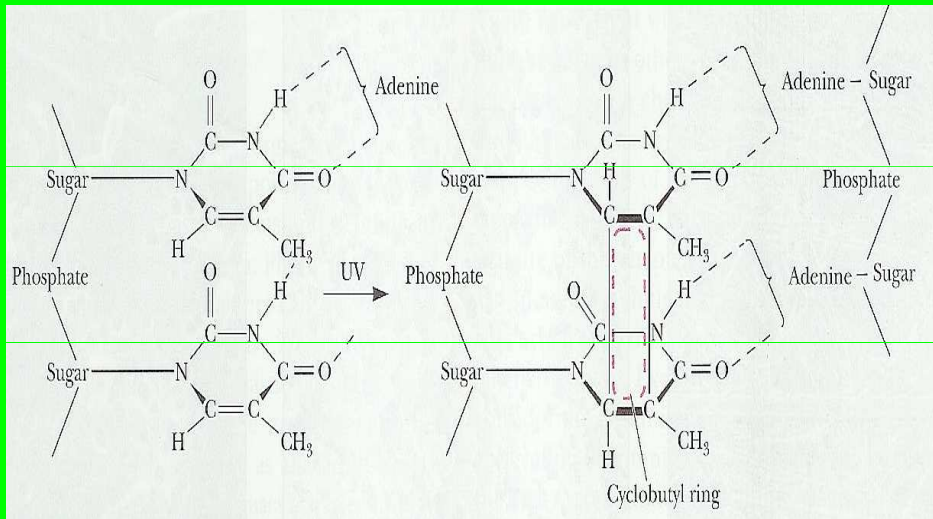


- Silné mutagenní a letální účinky
- Nejčastěji se využívá v oblasti s vlnovou délkou kolem 265 nm
- Vlnové délky germicidních lamp – 210-310 nm
- Intenzita účinku je závislá na množství pohlceného záření a klesá se čtvercem vzdálenosti od zdroje
- Pronikavost UV je velmi malá – využití pro sterilizaci 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 nukleoproteidy
- 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 γ paprsky

- Značná penetrační schopnost
- Působí na všechny buňky (včetně vyšších organizmů)
- Mechanismus – ionizace molekul intracelulární vody za tvorby volných hydroxylových radikálů, vznik oxiranů, přímý účinek na DNA (indukce zlomů chromozomů)
- Velmi citlivé jsou G- bakterie, méně G+ , kvasinky a plísně
- Účinnost se výrazně zvyšuje přítomností O₂, látky silně redukující (askorbová kyselina, sulfhydrylové skupiny) působí protektivně
- K dosažení letální dávky pro mikroorganismy je potřebí 10⁴ 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

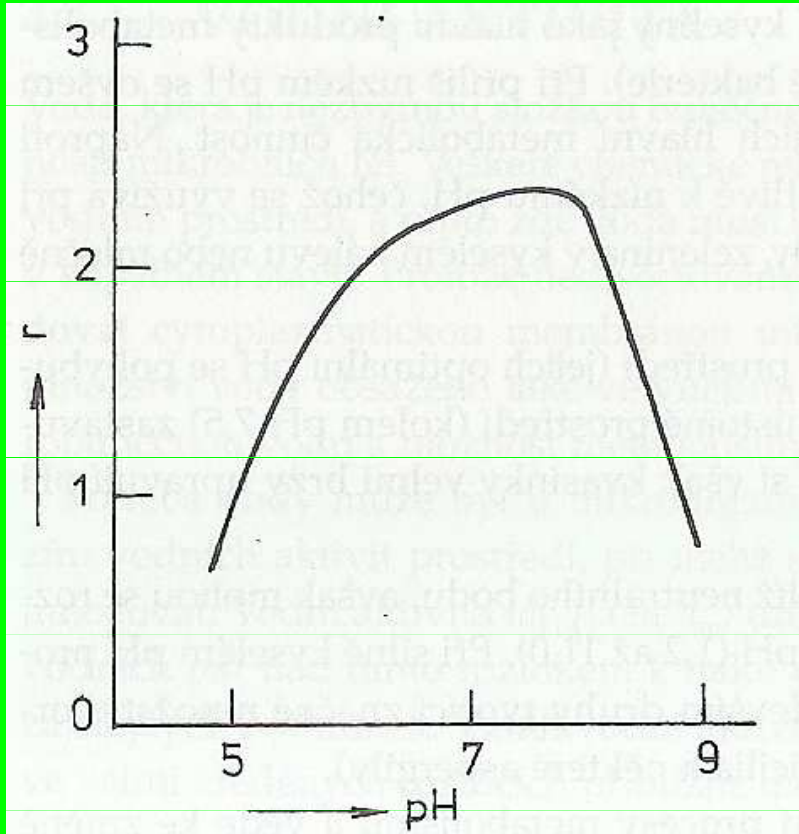
- *Dezinfekční látky

- *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

Mikroorganismus	pH minimum	pH optimum	pH maximum
Bakterie	4.5	6.5 - 7.5	9
octové bakterie	4	5.4 - 6.3	9.2
mléčné bakterie	3.2	5.5 - 6.5	10.5
<i>Pseudomonas</i>	5.6	6.6 - 7	8
enterobakterie	5.6	6.5 - 7.5	9
<i>Salmonella typhi</i>	4 - 4.5	6.5 - 7.2	8 - 9.6
<i>Escherichia coli</i>	4.3	6 - 8	9
<i>Staphylococcus</i>	4.2	6.8 - 7.5	9.3
<i>Clostridium</i>	4.6 - 5		9
<i>C. botulinum</i>	4.8		8.2
<i>C. perfringens</i>	5.5	6 - 7.6	8.5
<i>Bacillus</i>	5 - 6	6.8 - 7.5	9.4 - 10
<i>Acidithiobacillus thiooxidans</i>	0,5	2 - 3	6
Kvasinky	1.5 - 3.5	4 - 6.5	8 - 8.5
Mikromycety	1.5 - 3.5	4.5 - 6.8	8 - 11

- **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*)

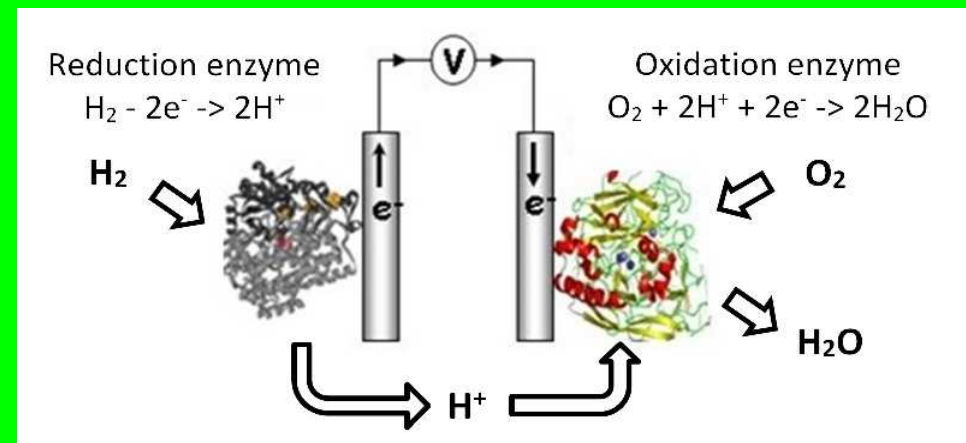
Chemické faktory - E_H

Half Reaction	Standard Potential (V)
$F_2 + 2e^- \rightleftharpoons 2F^-$	+2.87
$Pb^{4+} + 2e^- \rightleftharpoons Pb^{2+}$	+1.67
$Cl_2 + 2e^- \rightleftharpoons 2Cl^-$	+1.36
$O_2 + 4H^+ + 4e^- \rightleftharpoons 2H_2O$	+1.23
$Ag^+ + 1e^- \rightleftharpoons Ag$	+0.80
$Fe^{3+} + 1e^- \rightleftharpoons Fe^{2+}$	+0.77
$Cu^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons Cu$	+0.34
$2H^+ + 2e^- \rightleftharpoons H_2$	0.00
$Pb^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons Pb$	-0.13
$Fe^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons Fe$	-0.44
$Zn^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons Zn$	-0.76
$Al^{3+} + 3e^- \rightleftharpoons Al$	-1.66
$Mg^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons Mg$	-2.36
$Li^+ + 1e^- \rightleftharpoons Li$	-3.05

↑ stronger oxidizing agent (red arrow on the left)
↓ stronger reducing agent (blue arrow on the right)

Každé prostředí zahrnuje určitý **oxidačně redukční potenciál** (oxidoredukční, redoxní)

E_H je dán přítomností oxidujících a redukujících látek



Chemické faktory - E_H

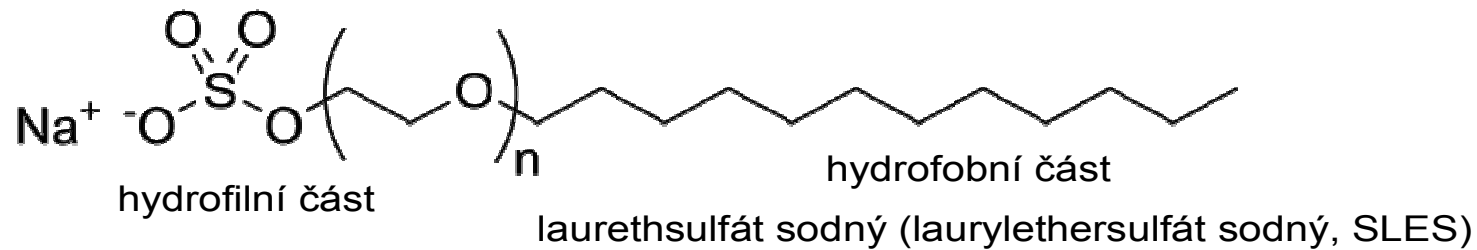
- **Oxidační látky** – O_2 , dusičnany, Fe^{3+} , peroxidy, ...
- **Redukující látky** – Fe^{2+} , H_2 , sloučeniny se sulfohydroxylovou skupinou nebo reaktivními dvojnými vazbami, ...
- Oxidačně redukční potenciál je (E_H) – rozdíl potenciálu mezi platinovou a vodíkovou elektrodou
- Pro aerobní mikroorganismy je vhodné E_H v rozmezí **+0,2-0,4 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

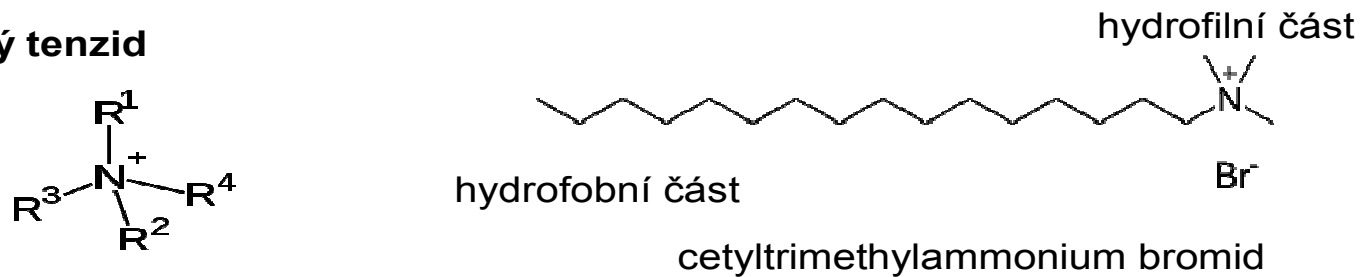
- Sloučeniny s molekulou tvořenou hydrofilní a hydrofobní částí
- Jejich přidáním do media se snižuje jeho povrchové napětí – tenzidy (smáčedla)
- **Anionaktivní tenzidy** (aniontová smáčedla) – mýdla
- **Kationaktivní tenzidy** (kationtová detergencia) – invertní mýdla
- **Neionogenní tenzidy** (neionizovaná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

Chemické faktory - povrchově aktivní látky

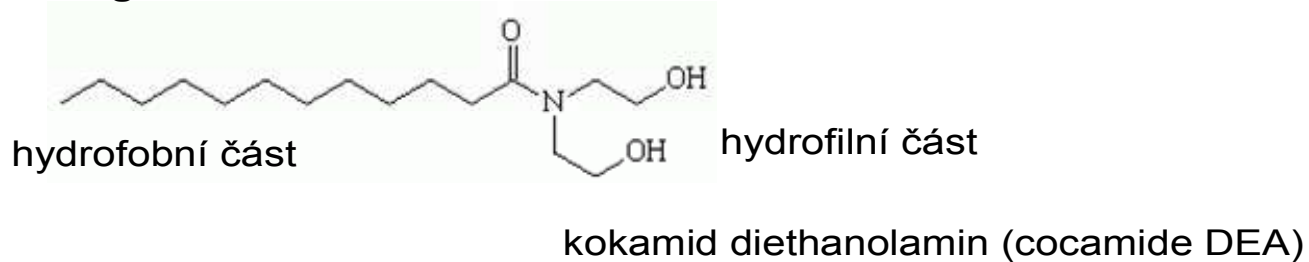
anionický tenzid



kationický tenzid



neionogenní tenzid



Chemické faktory

anionaktivní tenzidy

- * Mýdla
- * Sulfonáty
- * Alkylsulfáty

Chemické faktory

anionaktivní tenzidy

- První anionaktivní tenzidy nahrazující mýdla byly alkylbenzensulfonáty - saponáty (alkylbenzensulfonová kyselina a její soli). Roztoky alkylbenzensulfonátů jsou téměř neutrální
- V posledních letech - nové anionaktivní tenzidy, např. sulfáty mastných alkoholů, olefinsulfonáty (mají vynikající prací schopnosti nezávislé na tvrdosti vody i při relativně nízkých teplotách). Jsou velmi šetrné k pokožce. Sulfáty proto slouží jako prací prostředek pro jemné prádlo a vlnu, jako šampóny a ruční mycí prostředky na nádobí, případně jako přísada do koupelnových pěn

Chemické faktory

anionaktivní tenzidy

- Funkční skupiny - $-\text{COOH}$, $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{OSO}_3\text{H}$, $-\text{OPO}(\text{OH})_2$
 - *monofunkční R-COOMe (alkalická mýdla vyšších mastných kyselin)
 - *bifunkční – 2 polární skupiny (obě nebo jedna disociována) 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,

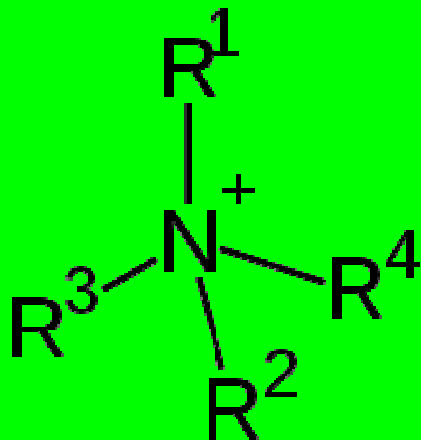
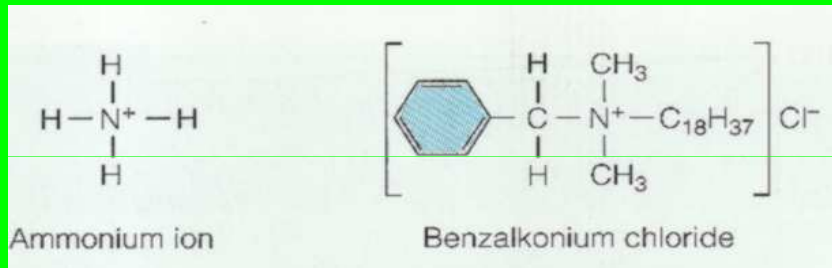


Chemické faktory - kationaktivní tenzidy

- Význam těchto tenzidů spočívá především v dezinfekčních a antiseptických účincích
- Kationaktivní tenzidy vytvářejí adsorpční vrstvy na povrchu mikroorganismů. Vytvořená vrstva brání vazbě molekul substrátu na vazebná místa na buněčné stěně (omezení výživy)
- Přípravky nepoškozují pokožku a toxicita je velmi malá. Uplatňují se proto jako antiseptika, dezinfekční koupelové a kosmetické přípravky
- Mezi nejvýznamnější kationaktivní prostředky jsou organické kvartérní amoniové soli. Ty se většinou připravují reakcí vyšších jednosytných alkoholů a halogenkarboxylových kyselin nebo jejich esterů. Vzniklý halogenester dále reaguje s terciálním aminem na kvartérní amoniovou sůl esteru vyšší alkanové kyseliny

(decylamoniumbromid, dodecyltrimetylamoniumbromid, cetylpyridiniumbromid, tetradecyltrimetylamoniumbromid atd.)

Chemické faktory - kationaktivní tenzidy



- Dusíkaté organické sloučeniny – zejména kvarterní amoniové (nebo pyridiniové) sole
- Bezdušíkaté 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

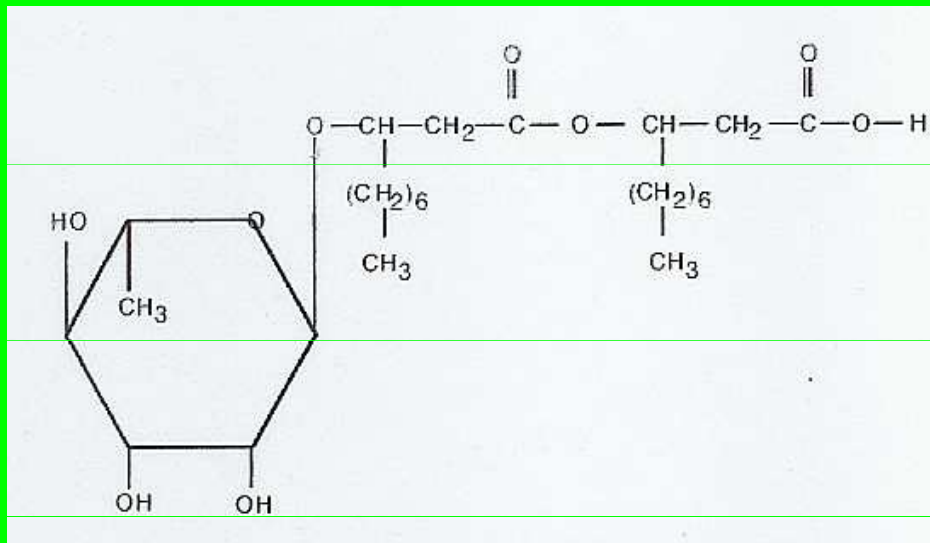
Chemické faktory – neionogenní tenzidy

- * Oxyetylenáty
- * Alkylpolyglykozidy
- * Dietanolamidové tenzidy
- * Polyhydroxysloučeniny
(sacharidické a polyolické estery)

Chemické faktory – neionogenní tenzidy

- Tenzidy obsahují slabě polární skupiny
 - aminoskupiny ($-\text{NH}_2$)
 - éterové kyslíkové atomy ($-\text{O}-$)
 - hydroxylové skupiny ($-\text{OH}$)
- Mají nižší sklon k pěnění
- Nízká toxicita

Chemické faktory – neionogenní tenzidy



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

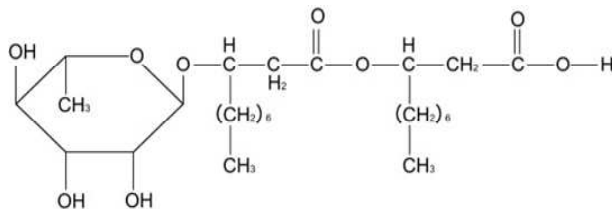
- Rozpustnost ve vodě je dána jejich silnou afinitou k H₂O
- Tenzidy s eterickým můstkem [R-O(CH₂-CH₂-O)_nH]
- Tenzidy s aminovým nebo amidickým můstkem
- Tenzidy s esterovým můstkem (estery vyšších mastných kyselin s polyglykoly, glycerolem, mono nebo disacharidy, ...)
- Hromadí se na rozhraní dvou fází (prostředí x povrch buňky)
- Umožňují vhodné rozptýlení shluklých buněk
- Zefektivňují příjem živin a exkreci metabolitů
- Jsou využívány při degradaci polutantů

Chemické faktory – biosurfaktanty (biotenzidy)

- * Podle chemické struktury se dělí na
 - glykolipidy
 - lipopeptidy
 - fosfolipidy
 - lipid-polysacharidové komplexy
 - lipid-aminokyselinové komplexy
 - sulfolipidy
- * Hydrofobní část tvoří obvykle dlouhý alifatický řetězec a hydrofilní částí jsou sacharidy, polysacharidy a peptidy

Chemické faktory – biosurfaktanty (biotenzidy)

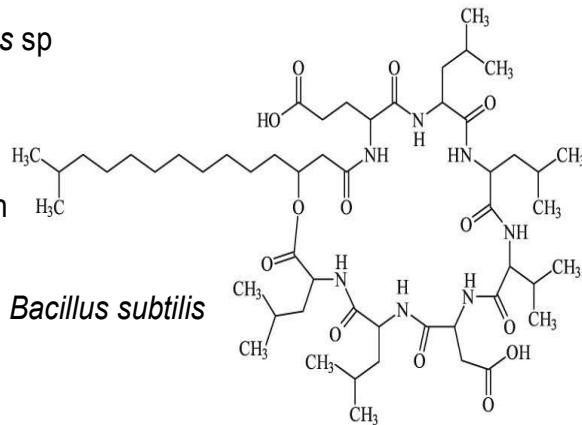
rhamnolipid



producent *Pseudomonas* sp

lipopeptid surfaktin

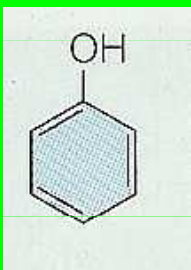
producent *Bacillus subtilis*



- schopnost snižovat povrchové napětí akumulací na fázové rozhraní dvou navzájem nemísitelných kapalin, stabilizovat emulze
- produkce surfaktantů vede ke změně mezifázové volné energie buňky a povrchu pevného substrátu
- mají svou úlohu při formování biofilmu
- mají antibakteriální účinky
- některé biosurfaktanty dokáží navodit diferenciaci místo buněčného růstu (možný protirakovinný účinek)

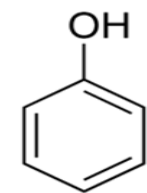
Dezinfekční látky

- 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 mikroorganismu (při nízkých koncentracích) a jeho stabilita
- **Nejpoužívanější dezinfektanty**
 - fenol,
 - fenolické sloučeniny,
 - halogeny,
 - alkoholy
 - těžké kovy,
 - silná oxydovadla (H_2O_2 , KMnO_4)
 - barviva,
 - syntetické tenzidy,
 - některé plyny

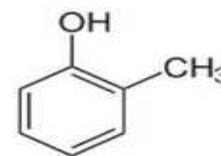


Dezinfekční látky - fenol

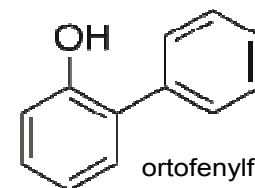
- Účinek – snížení povrchového napětí prostředí s následným porušením buněčné stěny
- Při koncentraci vyšší než 1% má výrazný antimikrobiální účinek
- Používá se pro dezinfekci kontaminovaných nástrojů, sputa, moči,
- **Fenolový koeficient** – pro srovnání účinnosti dezinfekční přípravků (poměr mezi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



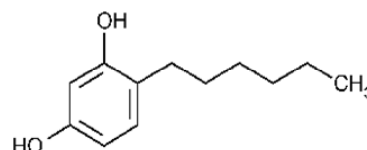
fenol



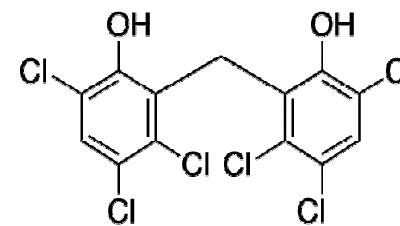
o-kresol



ortofenylfenol



hexylresorcinol



hexachlorofen

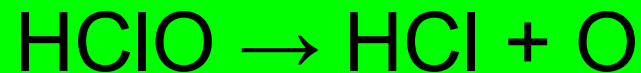
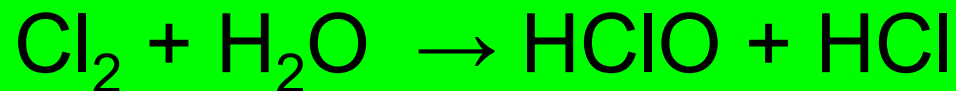
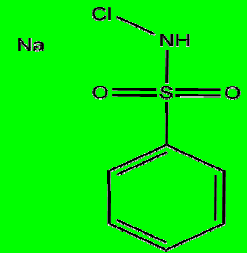
Dezinfekční látky - **alkoholy**

- 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



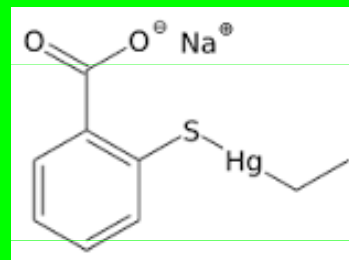
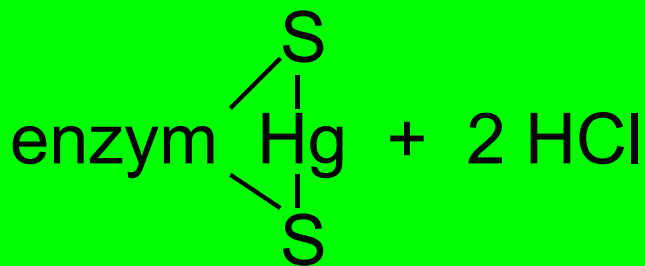
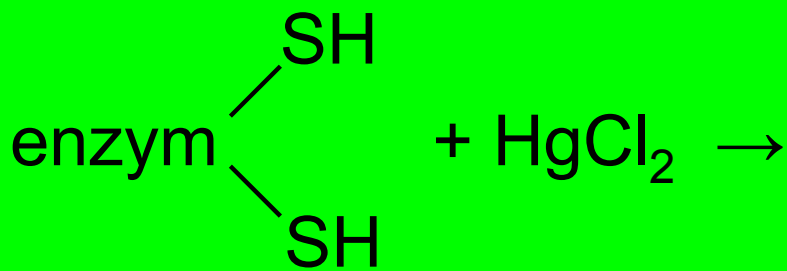
- Některé kovy vykazují silný antimikrobiální efekt – stříbro, měď, rtuť, ...
- Antimikrobiální aktivita kovů se označuje jako **oligodynamický účinek**
- Kovy působí v relativně nízkých koncentracích
- Mechanismus účinku – vazba na sulfhydrylové skupiny a denaturace bílkovin
- Toxicita stoupá od lehčích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

Dezinfekční látky – těžké kovy

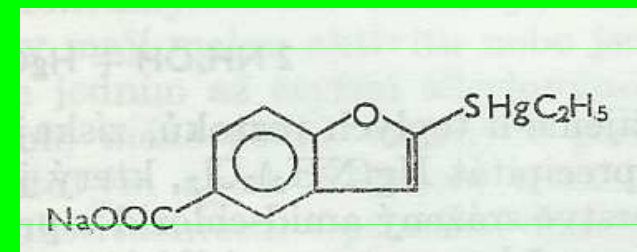
- **Ag** aplikace jako AgNO_3 ve formě organických nebo anorganických solí
- 1884 – prevence oftalmie u novorozenců (AgNO_3)
- Stříbrné ionty jsou velmi reaktivní s bílkovinami a chloridy – to omezuje jejich použití pro použití jako povrchového antiseptika
- Nyní se používají koloidně rozpustné sloučeniny 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 Řečanům (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 –chloridtrihydroxyd diměďnatý (Kuprikol)
- Při dermatomykózách – měďnaté soli organických kyselin(undecylenová k.)

Dezinfekční látky – těžké kovy

- **Hg** - příprava rtuti pro léčebné účely – asi 300 př.n.l.
- Antiseptika ve vodě nerozpustná – HgO (Ungentum luteoli), sulfid rtuťnatý,..
- HgCl₂ a Hg₂O(CN)₂ jsou silně toxické – použití pro dezinfekci – korozivní účinky
- Organokovové sloučeniny rtuti -



Thiomersal



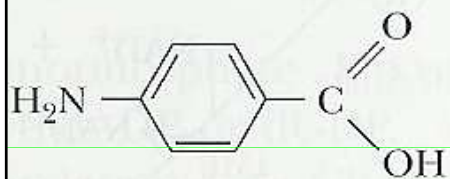
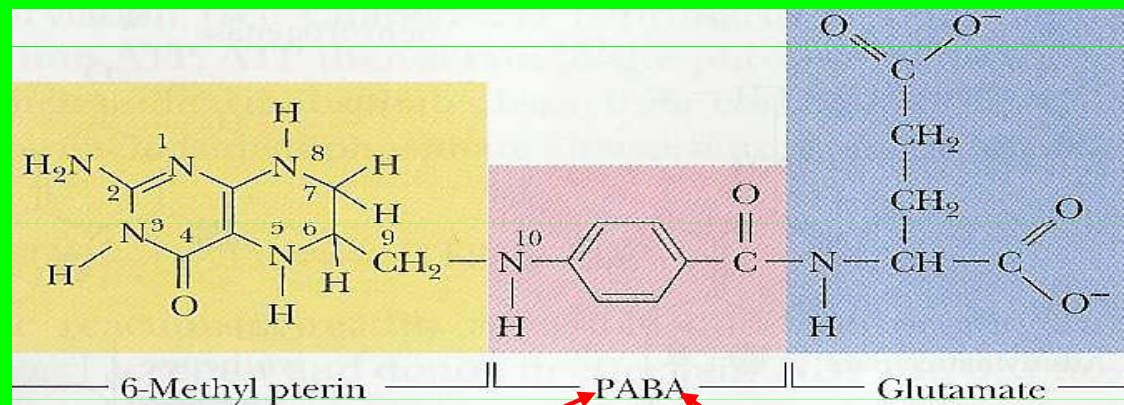
Cialit

Chemoterapeutika

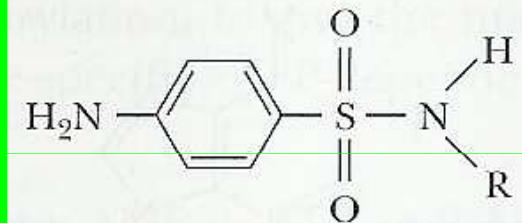
- Mají selektivní antibakteriální (mikrobistatický) účinek
- Inhibují pochody vedoucí k syntéze koenzymů, bílkovin a nukleových kyselin
- Jsou **strukturálními analogy** esenciálních látek, ale mají větší afinitu k enzymům
- **Jejich inhibiční efekt je možné odstranit nadbytkem esenciální látky**

Chemoterapeutika - sulfonamidy

- Sulfonamidy mají vysokou selektivitu
- Bakteriostatický efekt je způsoben kompetitivní inhibicí syntézy kyseliny tetrahydrofolové

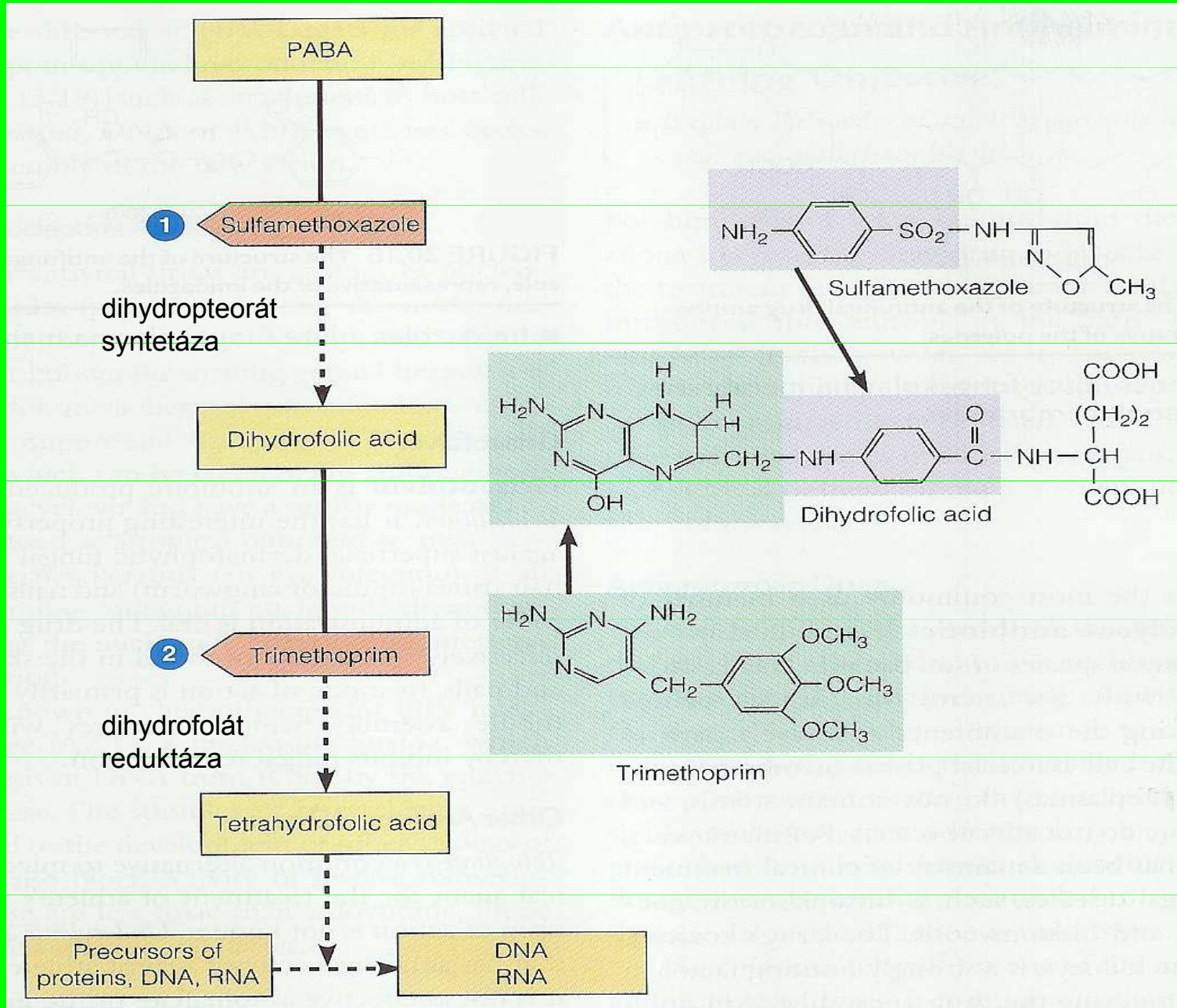


Kys. p-aminobenzoová (PABA)



Sulfonamid – strukturální analog

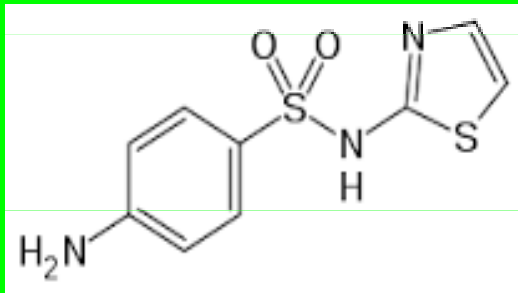
Chemoterapeutika - sulfonamidy



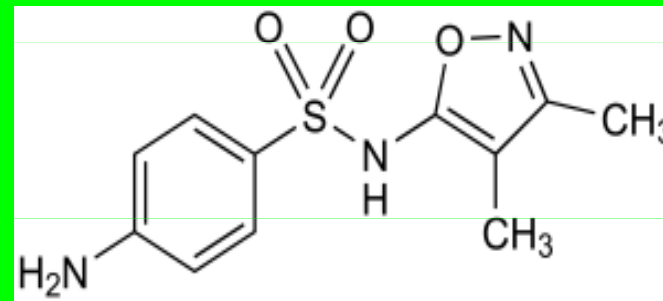
Chemoterapeutika - sulfonamidy

- V současné době: léčba močových infekcí, širší uplatnění kotrimoxazol (sulfamethoxazol + trimethoprim)
- Spektrum: streptokoky, hemofily, nokardie, aktinomycety, chlamydie, *Toxoplasma gondii*, *Neisseria meningitidis*

Další sulfonamidy



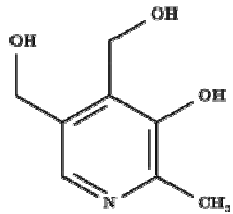
sulthiazol



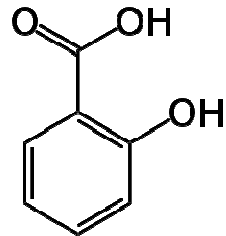
sulfixazol (sulfafurazol)

Chemoterapeutika

esenciální látka

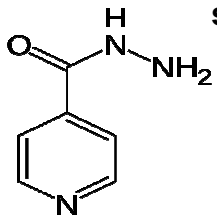


pyridoxin (pyridoxol)

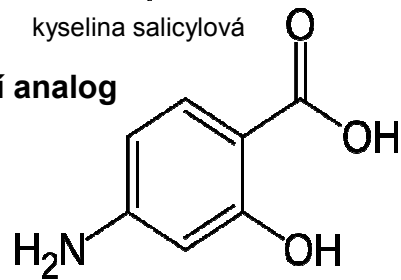


kyselina salicylová

strukturální analog

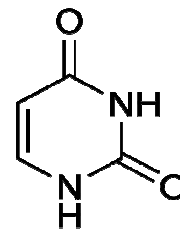


isonicotinylhydrazin
(isoniazid, INH)



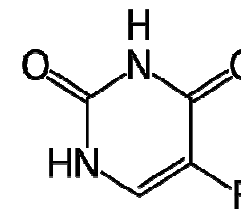
4-aminosalicylová kyselina
(PAS)

esenciální látka

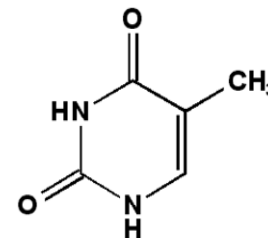


uracil

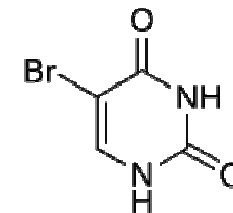
strukturální analog



5-fluorouracil



tymin

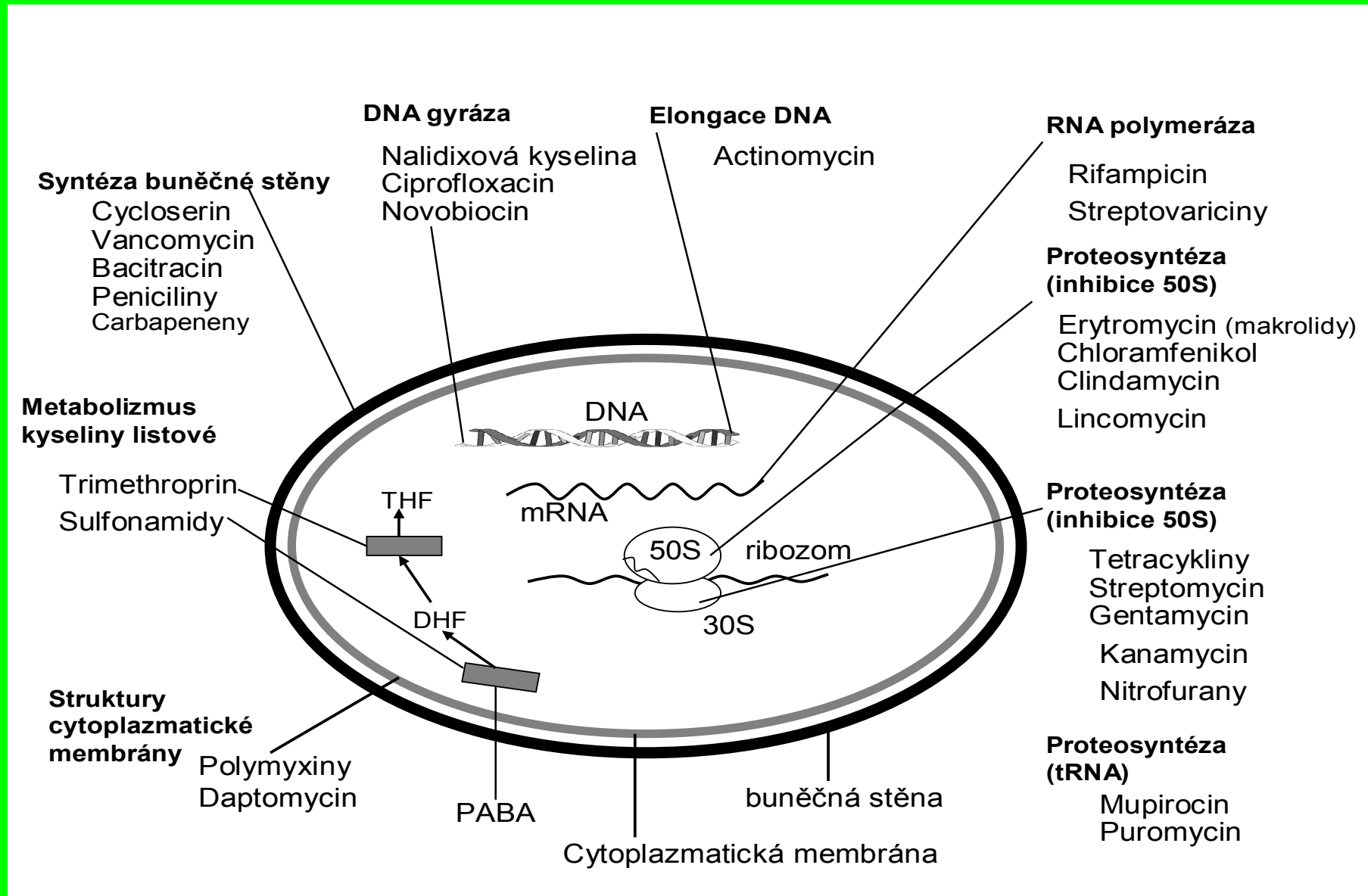


5-bromuracil

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*,.....)

Schematický náčrt mechanismu účinku některých antibiotik



Antibiotika

Nejdůležitější vlastností antibiotik je **selektivita** jejich účinku, tzn. že zasahují struktury, které jsou specifické pro mikroorganismy a pacienta víceméně nepoškozují. Podle působení na bakterie se antibiotika dělí na dvě skupiny: **baktericidní** a **bakteriostatická**. První skupina bakterie hubí (tj. usmrcuje), bakteriostatická zastavují jejich množení, ale mnoho bakteriostatických antibiotik působí ve vyšších koncentracích rovněž baktericidně. Oba dva typy jsou nicméně schopné potlačit růst kolonií ***in vitro***

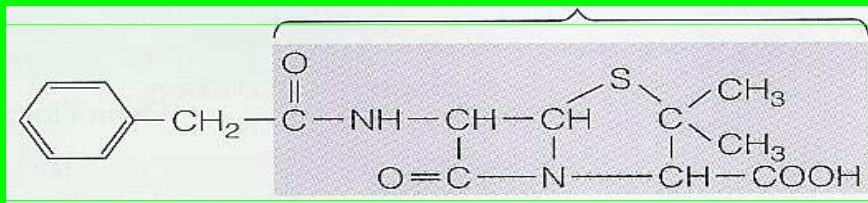
Antibiotika

Podle mechanismu účinku na bakteriální buňku se dělí antibiotika na

- Antibiotika, která inhibují syntézu lipidů a jiných látek pro **buněčné stěny**:
beta-laktamová antibiotika, monobaktamy, karbapeny, glykopeptidy, bacitracin
- Antibiotika, která narušují **cytoplazmatickou membránu** :
polyeny, polymyxiny, azoly, amfotericin B, ionofory
- Antibiotika, která inhibují syntézu **nukleových kyselin** :
inhibicí DNA-gyráza: aminoglykozidy, novobiocin, chinolony
inhibicí RNA-polymerázy: ansamyciny
- Antibiotika, která interferují s bakteriální **proteinovou syntézou**:
vazbou na ribozomální podjednotku 30S : tetracykliny
vazbou na podjednotku 30S a 50S: aminoglykozidy
vazbou na podjednotku 50S: makrolidy, linkosamidy, amfenikoly, diterpeny, aminocyklitoly
zabráněním vestavění aminokyseliny do bílkoviny: amfenikoly
- Antibiotika, která inhibují **procesy fosforylace**:
gramicidiny, antimycin,

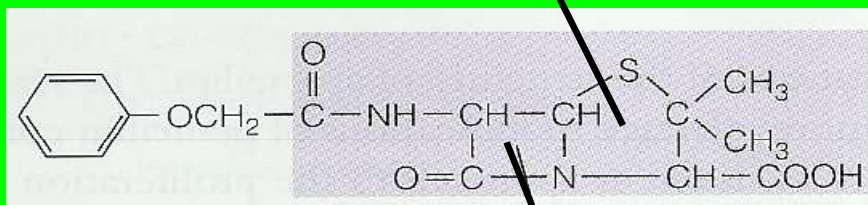
Antibiotika - Inhibice syntézy buněčné stěny

- Přirozené peniciliny



Penicilin G

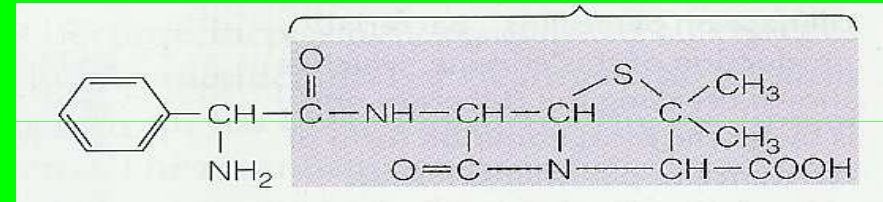
thiazolidinový kruh



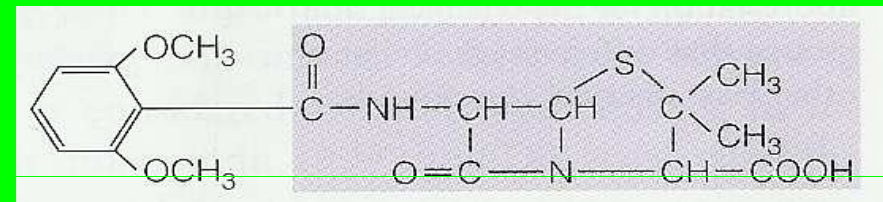
Penicilin V

β -laktamový kruh

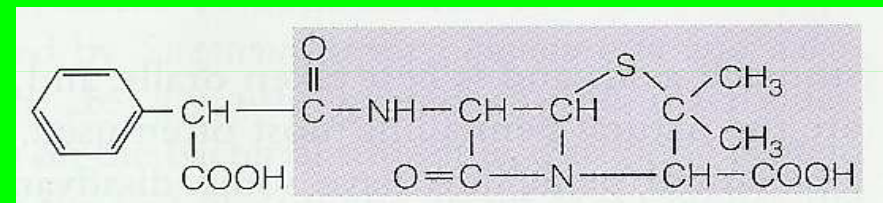
- Semisyntetické peniciliny



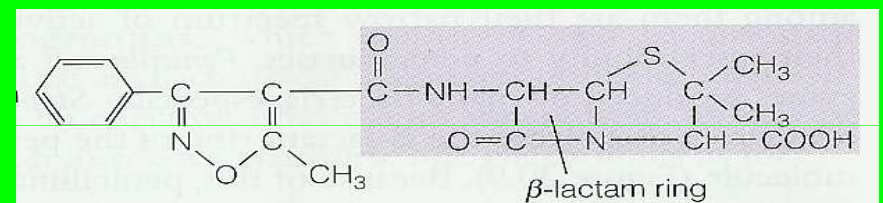
Ampicilin



Methicilin

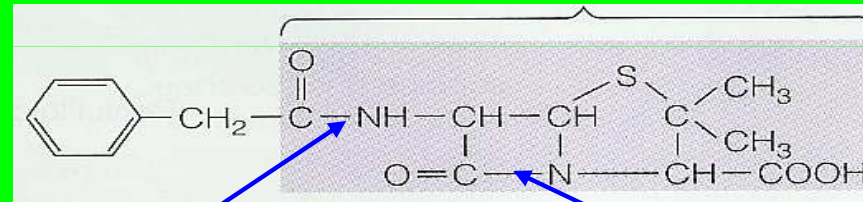


Cambericilin



Oxacilin

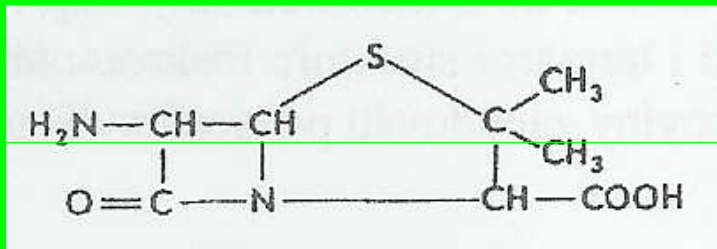
Antibiotika - Inhibice syntézy buněčné stěny



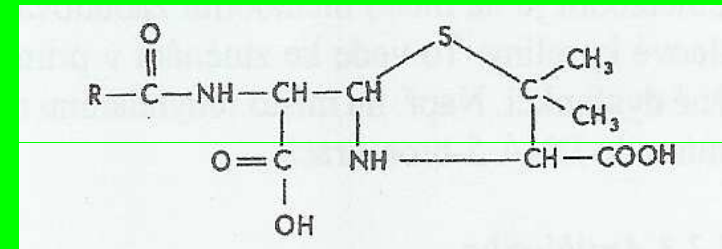
penicilin

amidáza

penicilináza

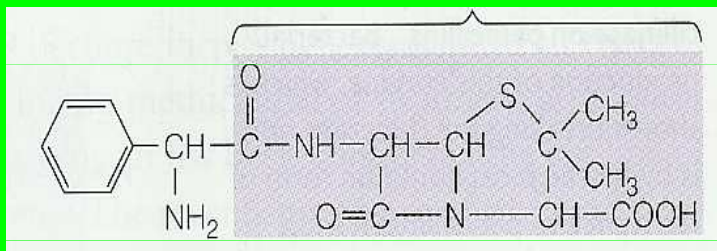


6-aminopenicilánová kys



penicilinová kys.

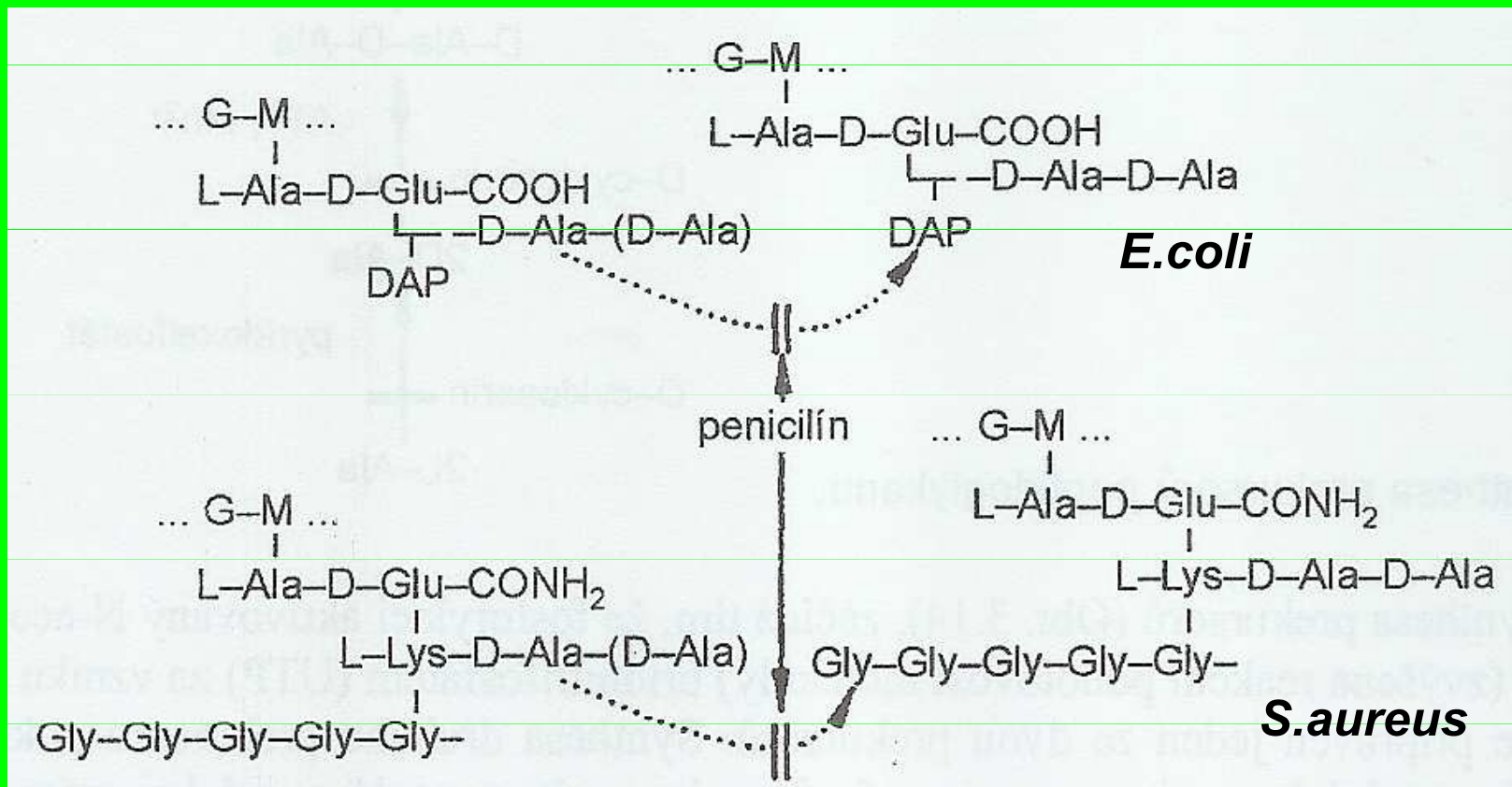
Inaktivní



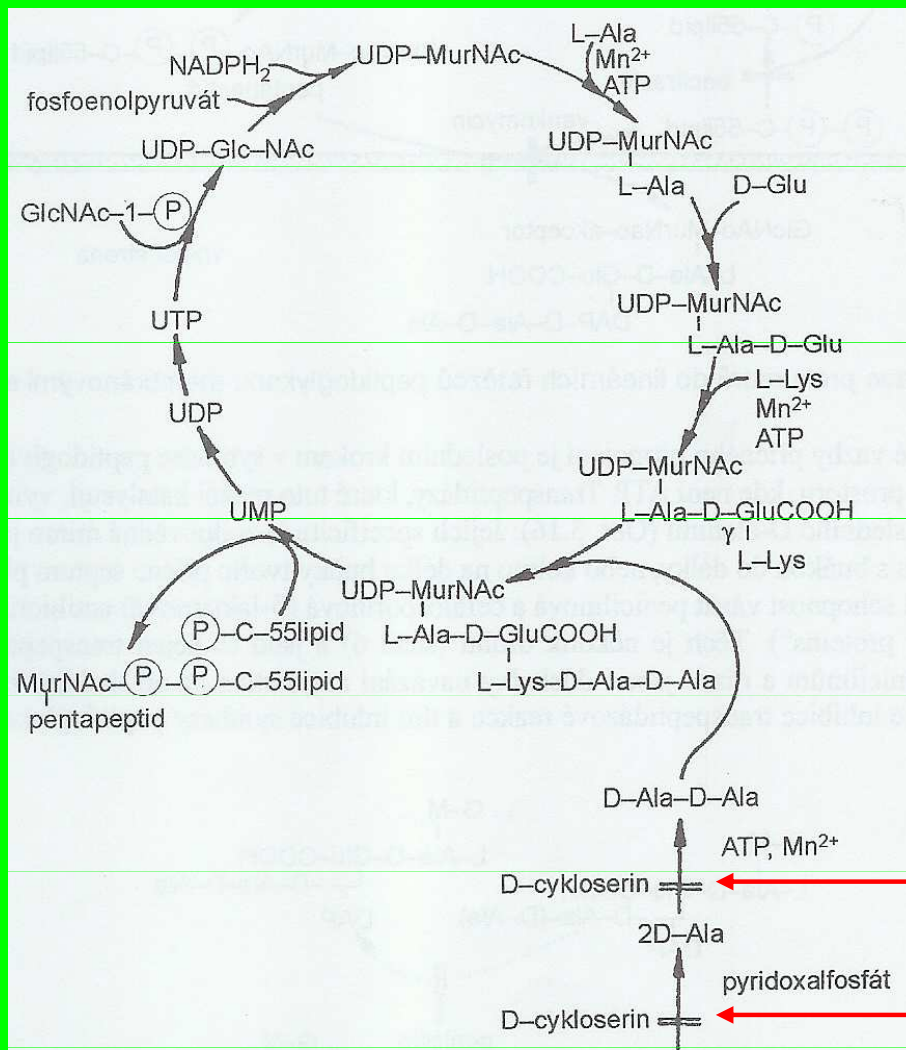
Ampicilin

Antibiotika - Inhibice syntézy buněčné stěny

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

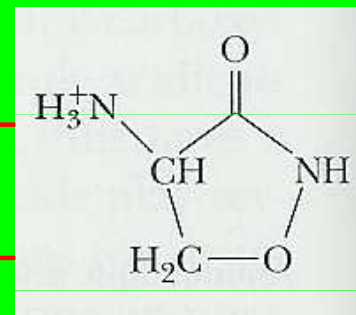


Antibiotika - Inhibice syntézy buněčné stěny



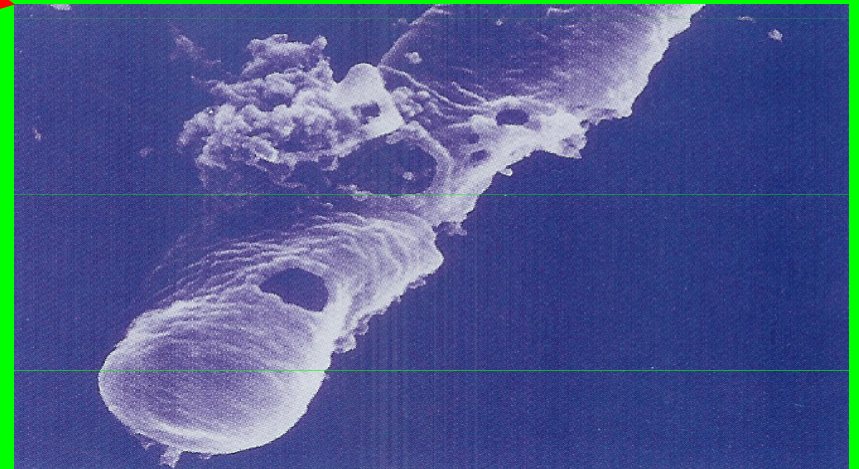
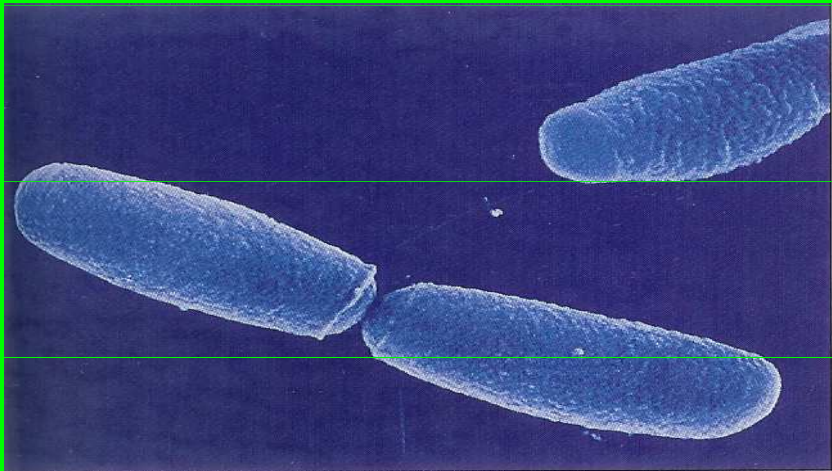
2L-Ala

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



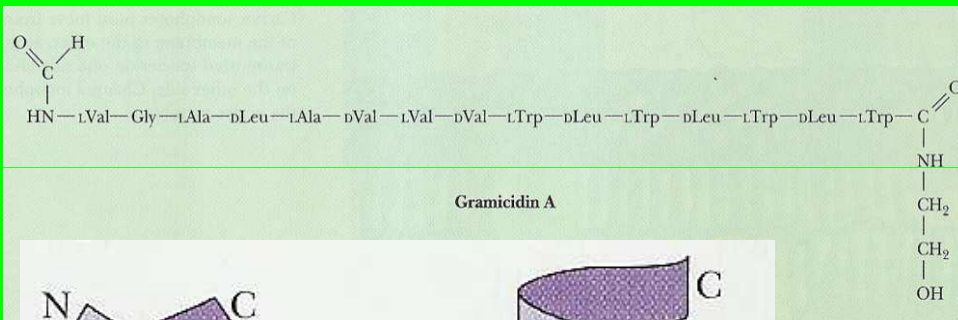
Antibiotika - Inhibice syntézy buněčné stěny

- Výsledek působení

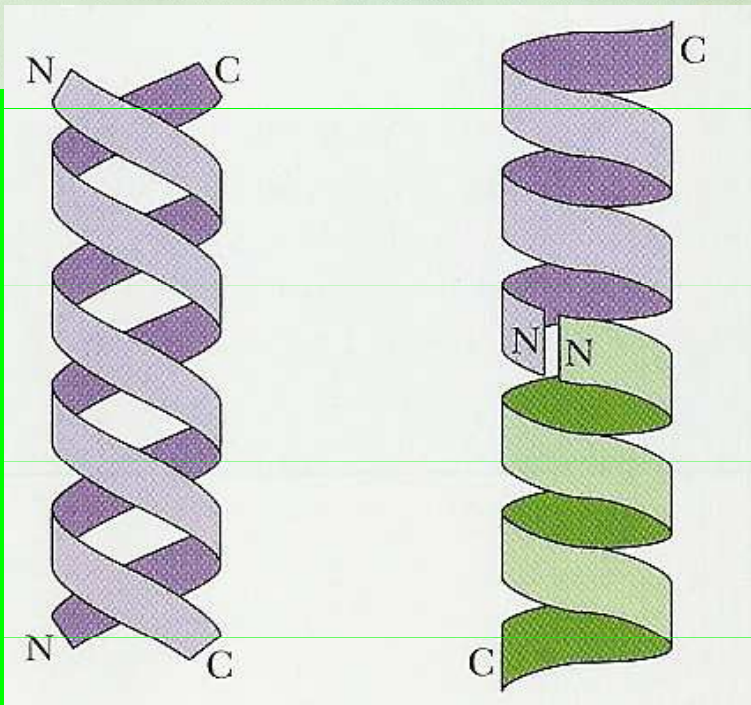


Antibiotika - Inhibice funkce cytoplazmatické membrány

A – antibiotika tvořící v membráně póry – Gramicidin A



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



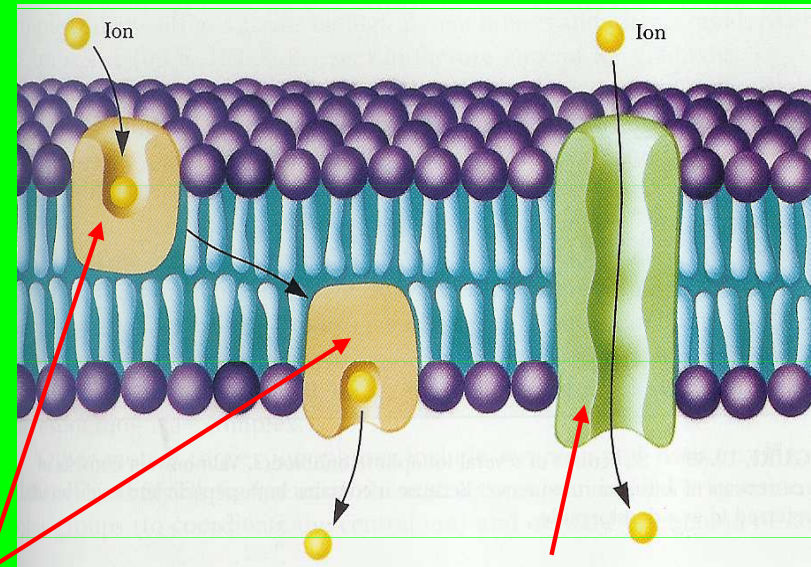
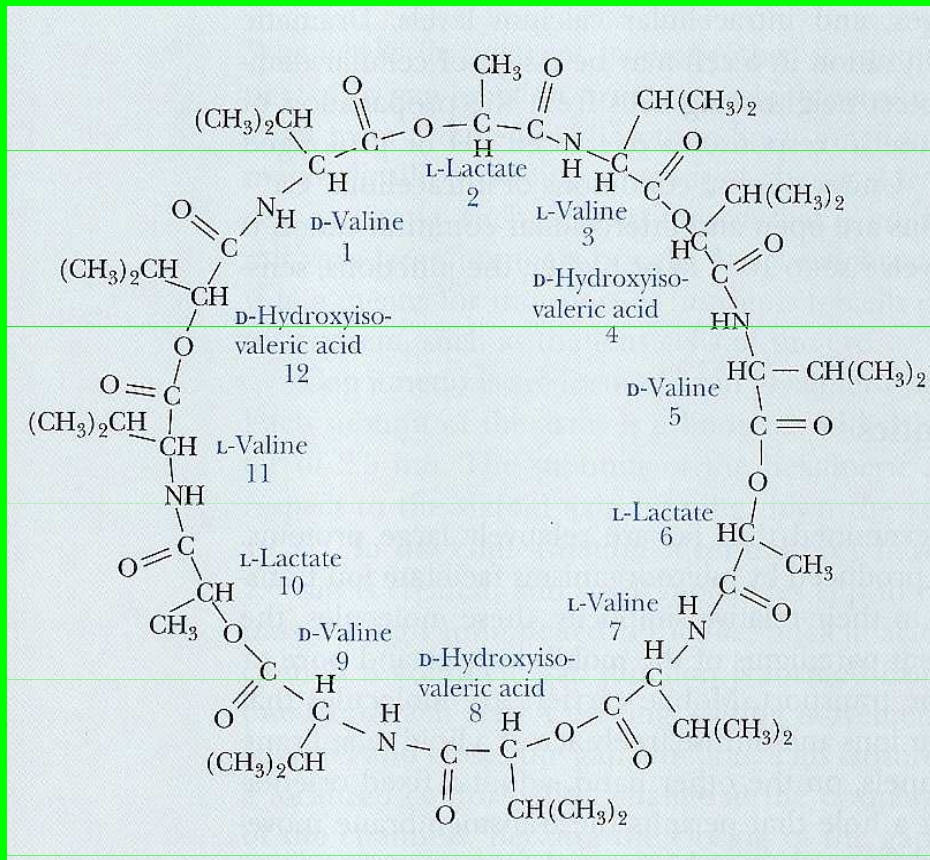
V lipidické vrstvě

V anorganickém roztoku

Antibiotika - Inhibice funkce cytoplazmatické membrány

B – ionofory – Valinomycin

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

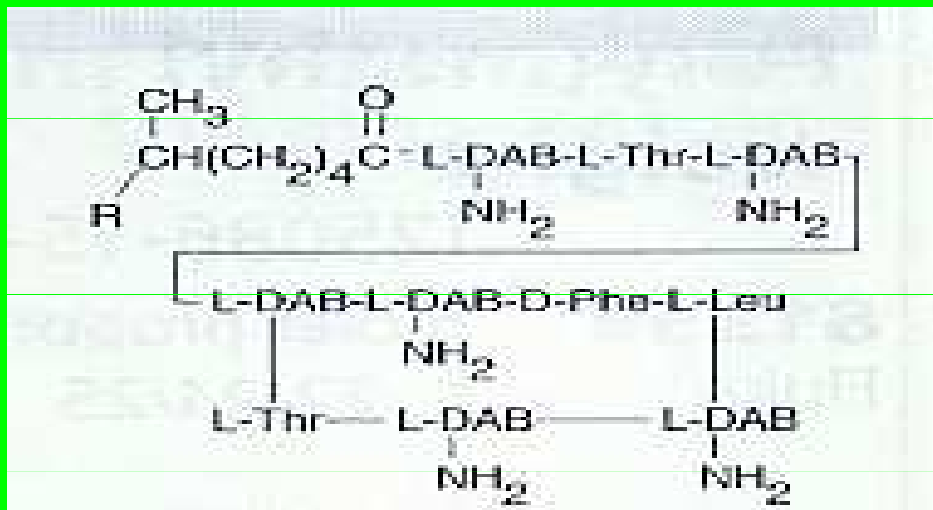


Přenašeč

Vytvořený kanál

Antibiotika - Inhibice funkce cytoplazmatické membrány

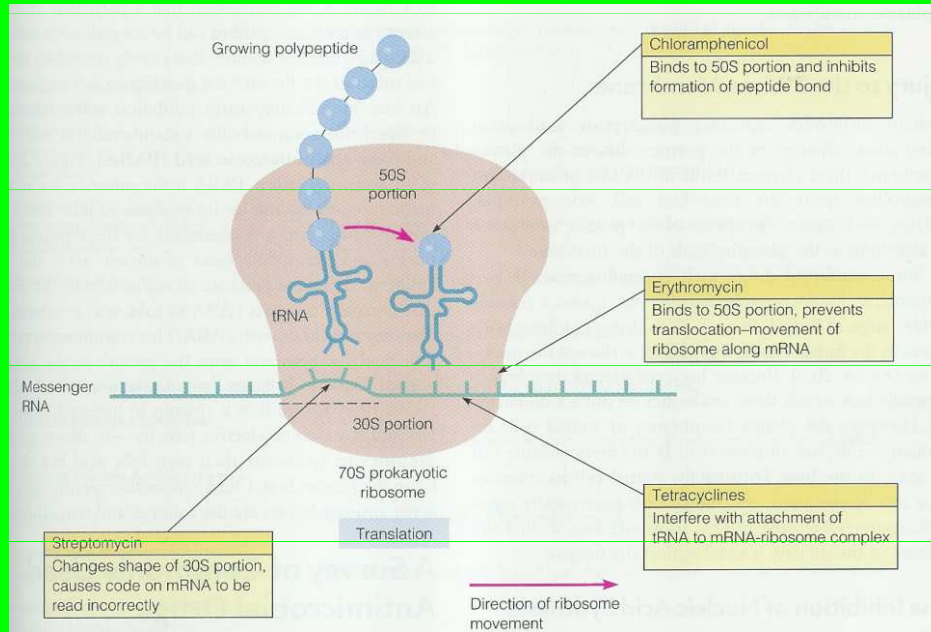
C – vyvolávající desorganizaci CM – Polymyxin B



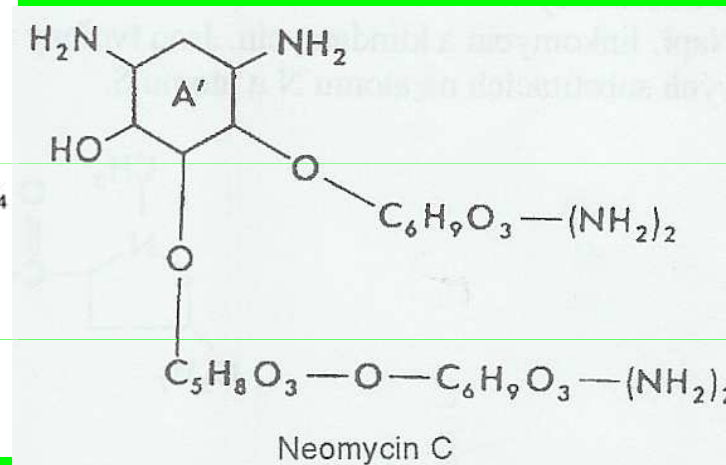
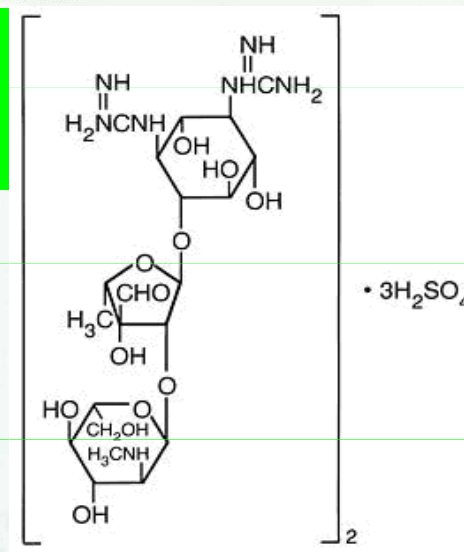
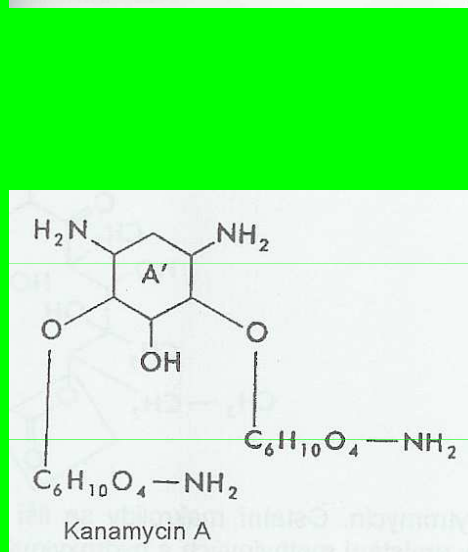
Pentapeptidový kruh s dlouhým postranním řetězcem (DAB – diaminomáselná kys. R – 6-metyloktanová kys.)

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

Antibiotika - Inhibice syntézy bílkovin

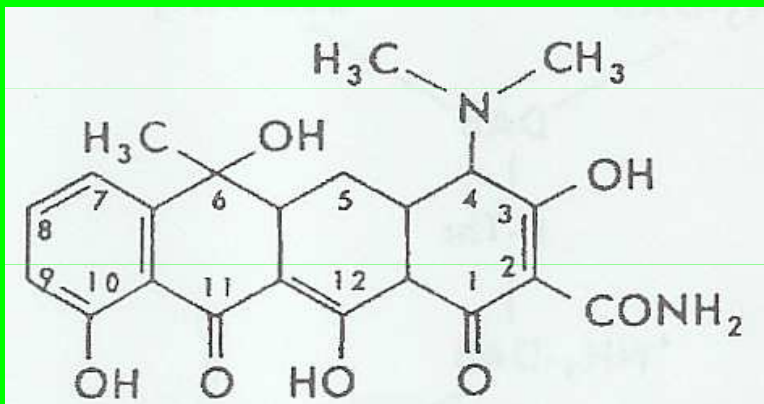


- **Aminoglykozidy** – streptomycin, kanamycin, neomycin, gentamycin – irreverzibilní vazba na S12 protein malé podjednotky → její distorze



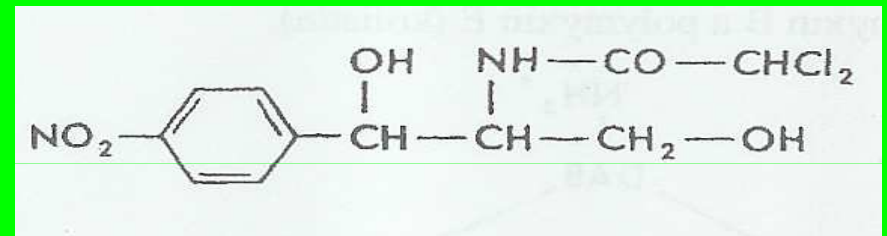
Antibiotika - Inhibice syntézy bílkovin

- **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

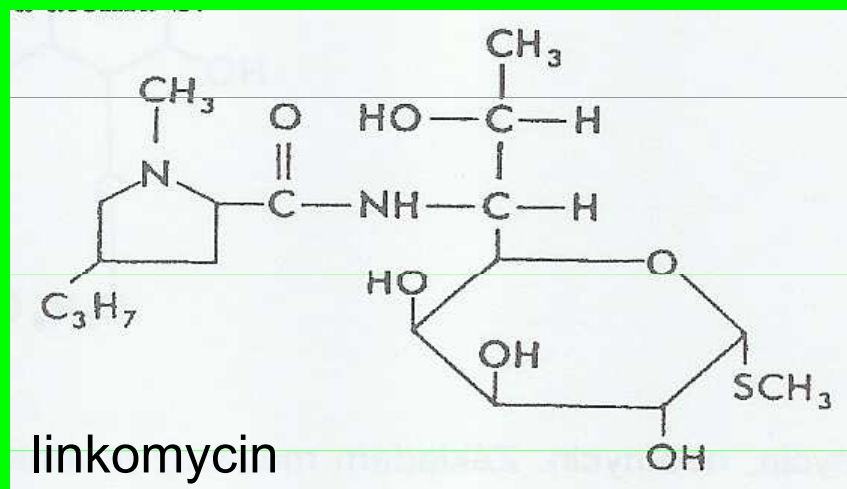
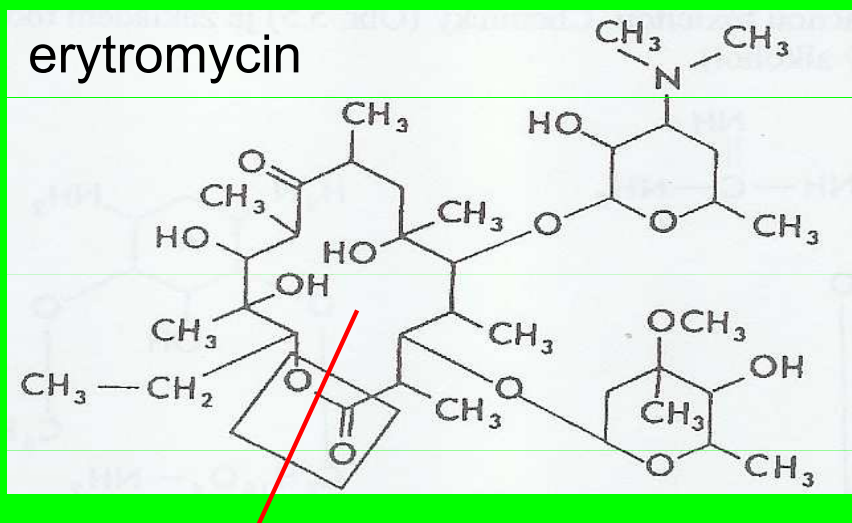


Vyrábí se i synteticky

Antibiotika - Inhibice syntézy bílkovin

- **Makrolidy** – erytromycin, oleandomycin, spiramycin – vazba na 23S rRNA 50S podjednotky

- **Linkosamidy** – linkomycin, clindamycin - vazba na 23S rRNA 50S podjednotky

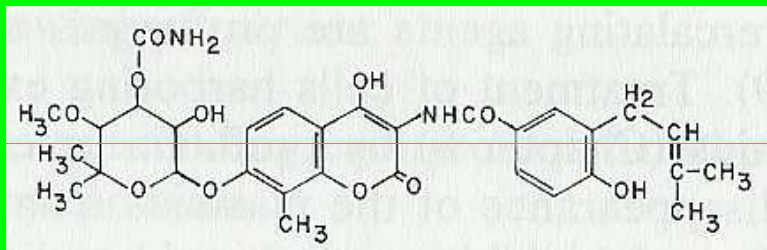


Makrocyclický laktonový kruh

Oba typy antibiotik mohou interferovat

Antibiotika - Inhibice syntézy a funkce nukleových kyselin

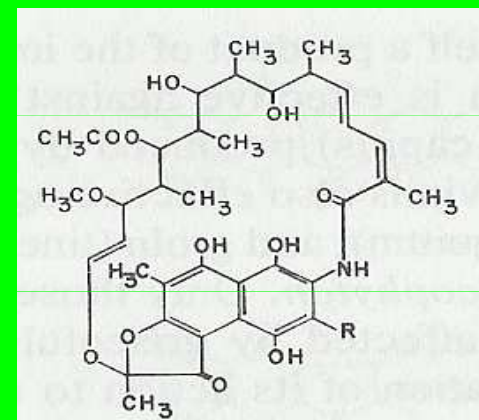
- **Inhibitory gyrázy** – zablokování syntézy DNA - novobiocin → vazba na β -podjednotku DNA gyrázy



novobiocin

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

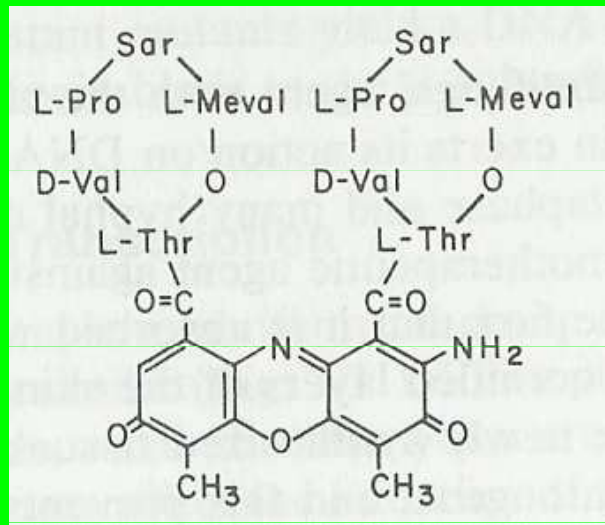
Streptolydigin - zablokování elongace tvazbou na β -podjednotku RNA polymerázy



rifampicin

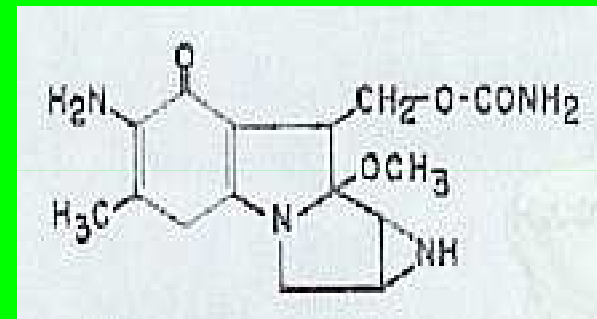
Antibiotika - Inhibice syntézy a funkce nukleových kyselin

- **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