

# Prokaryotická - bakteriálna bunka

- Štruktúra:
- **Obal**
  - plazmatická membrána
  - bunková steny
- **Cytoplazma**
  - jadrová hmota, ribozómy, vakuoly, inklúzie
- **Vonkajšie štruktúry**
  - púzdro, slizová vrstva, S vrstva, bičíky, fimbrie, pilli

# Cytológia

**Bičíky** – pohyb

**Fimbrie** – adherencia

**Pilli** – adherencia, konjugácia

Rigidita  
Delenie bunky  
Peptidoglykan kys.  
muramová  
G +, G -

**Bunková stena**

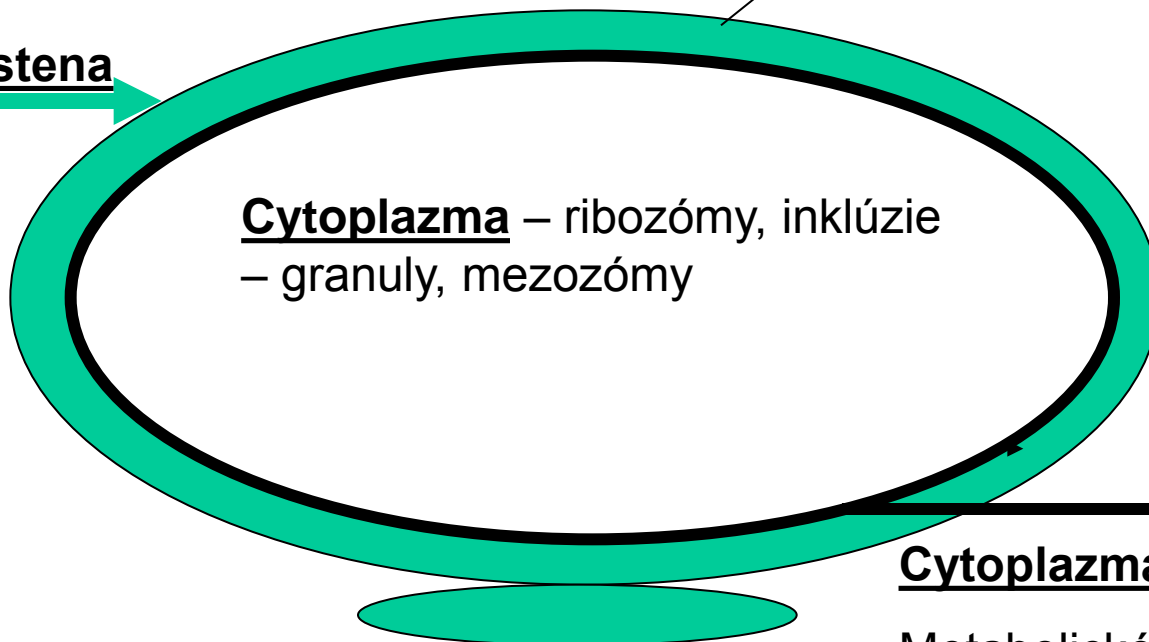
**Cytoplazma** – ribozómy, inklúzie  
– granuly, mezozómy

**Cytoplazmatická membrána**

Metabolické pochody, 3 -  
vrstvová, lipoproteinová,  
semipermeabilná, aktívny  
transport – permeázy

**Abnormálne formy**  
sféropasty,  
protoplasty,  
involučné formy,  
L formy

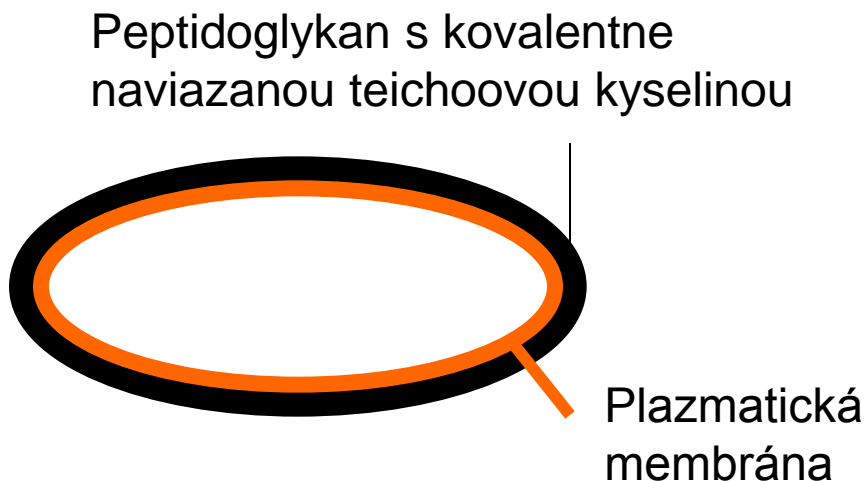
**hlienová vrstva**  
**mikropúzdro**  
**púzdro**



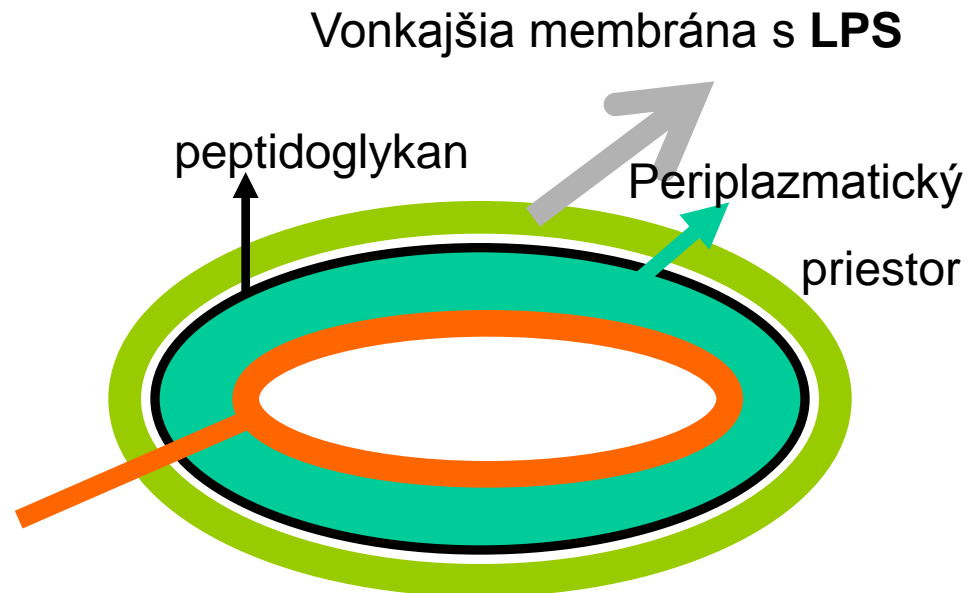
# Štruktúra

- Bunková obálka – bunková membrána a bunková stena +/- vonkajšia membrána
- *Peptidoglykan – posplietané makromolekuly glykanu – polysacharid N acetyl muramová kyselina a N acetyl glukozamín s bočnými reťazcami spojenými peptidovými väzbami*

## G+ bunka

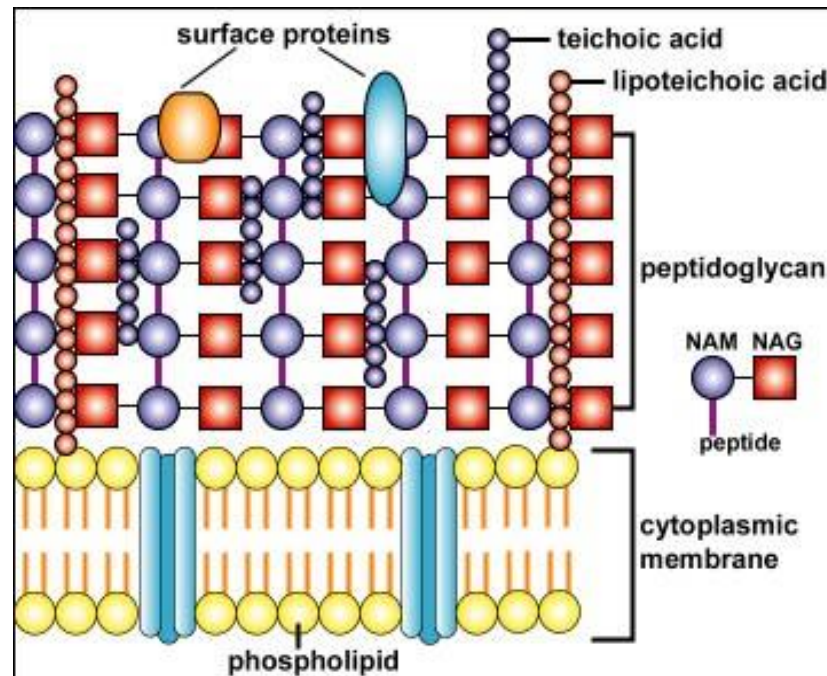


## G-bunka



# G<sup>+</sup> bakteriálna bunka

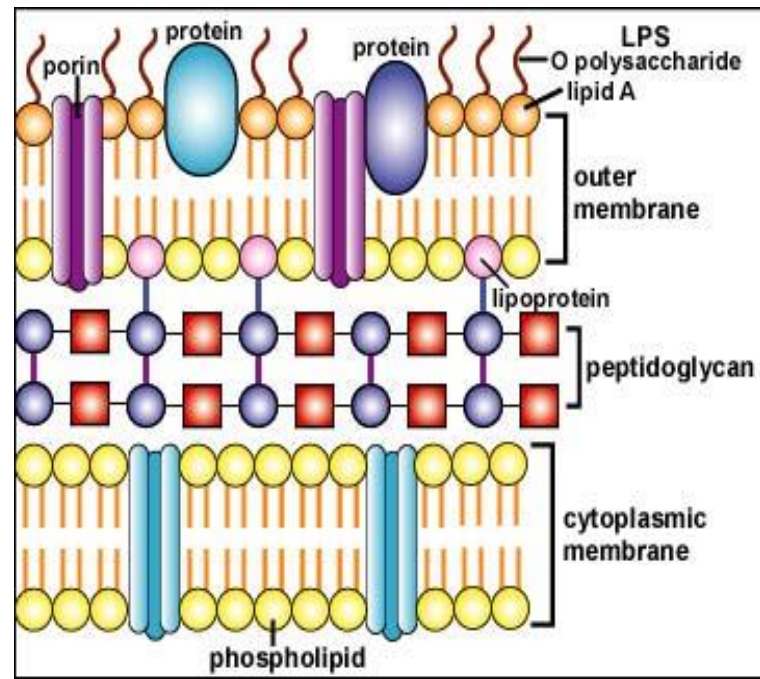
- Hrubá, mnohovrstiev peptidoglykanu spojených s kyselinou teichoovou ( polyméry glycerolu, fosfátov, ribitolu, lipidov) a povrchovými proteínmi



- Lyzozým(v slinách,slzách, mlieku, nosovom sekréte) rozkladá 1,4-glykosidickú väzbu medzi kyselinou muramovou a acetylglukozamínom, účinkuje hneď na G+ baktérie (na G- baktérie účinkuje až po vzniku útočného komplexu s komplementu, ktorý zničí vonkajšiu membránu)

# G- bakteriálna bunka

- Tenká vrstva peptidoglykanu – tzv. vnútorná stena
  - Tzv. vonkajšia membrána: lipidová dvojvrstva
    - fosfolipidy (**vnútorná časť dvojvrstvy**)
    - lipopolysacharid (**vonkajšia časť dvojvrstvy**)
- LPS = lipid A - core - polysacharid O Ag  
endotoxínové vlastnosti
- Periplazmatický priestor
    - želatínová hmota medzi peptidoglykanom a plazmatickou membránou



# Baktérie bez bunkovej steny- rezistencia na PNC ATB

- **Mykoplazmy** - prirodzene nemajú bunkovú stenu, ich plazmatická membrána obsahuje steroly - pevnosť. Osmotická stabilita - aktívny transport  $\text{Na}^+$
- **L formy** - formy baktérií bez b. steny, reverzibilné, vznikajú aj v priebehu infekcie, môžu sa množiť
- **protoplasty** – strácajú alebo nevytvárajú b. stenu
- **sféroplasty** – na svojom povrchu majú zvyšky b.steny

# Cytoplazma

- Koloidný roztok: vody, DNK, RNK, enzýmov, aminokyselín, organických a anorganických látok, minerálov.
- Bakteriálny metabolizmus
  - katabolizmus (živiny, ktoré boli bakteriálnymi exoenzýmami rozložené na menšie molekuly, aby mohli byť transportované do baktérie)
  - anabolizmus (syntéza vlastných molekúl za účasti endoenzýmov)
- Nukleoid (bakt. jadro), ribozómy (prebieha na nich syntéza bielkovín), plazmidy (extrachromozomálne uložená jadrová substancia), endospóry (klúdové formy baktérií), inklúzie



# Endospóry a sporulácia

- Kľudové štádium života niektorých bakteriálnych druhov z rodu *Bacillus* a *Clostridium*
- Vysokorezistentné - nepriepustnosť obalu, kontrola dezinfekčných prístrojov
- Sporulácia - v jednej vegetatívnej bunke vznikne jedna spóra ( replikácia DNK, vytvorenie septa, vytvorenie obalov prípadne exospória, rozpad zvyšku vegetatívnej bunky a uvoľnenie do prostredia)
- Germinácia - spóry nie sú škodlivé pokiaľ negerminujú - aktivácia (zmena teploty, alanín) - nasávanie vody

# Význam spór a nepravé spóry

- Význam - prenos ochorení - antrax, tetanus, botulizmus, plynová gangréna  
- diagnostika - charakteristické umiestnenie v bunke, nefarbia sa Gramom  
Wirtz Conklinovo farbenie
- *Exospóry - termostabilné útvary vzniknuté pučaním*
- *Cysty - proti vyschnutiu odolné útvary vo vnútri vegetatívnych buniek*
- *Conidia - termolabilné reprodukčné orgány baktérií zo skupiny Actinomycetes*

# Púzdro a S vrstvy

- **Púzdro**
  - Extracelulárna hmota produkovaná baktériami pevne priliehajúca k b. stene
  - obvykle polysacharidové, imunogénne, rôzne antigénne typy bakteriálneho druhu na základe chem. štruktúry,
- Význam - antifagocytárne účinky, zábrana vstupu ATB, nástroj virulencie,
- Dôkaz - Burriho farbenie, aglutinácia, mukózny vzhľad,
- *Bacillus anthracis* (proteinové púzdro), *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*,
- **S vrstva** - Extracelulárna amorfná, nejednotná hmota rôznej hustoty a hrúbky

# Bičinky

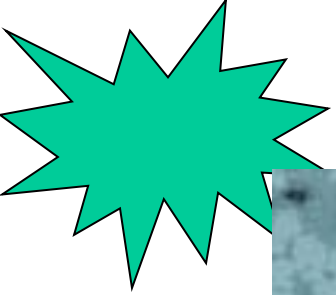
- Nástroj pohybu - rotácia bičíku
  - Usporiadanie
    - monotrichálne
    - amfitrichálne
    - lofotrichálne
    - peritrichálne
  - Štruktúra
    - vlákno - dutá helikálna proteínová štruktúra (flagelín, H antigén) vytvárajúca kôru
    - hák - flexibilné spojenie vlákna a bazálneho telieska
    - bazálne teliesko - upevnenie bičíka do b.steny a membrány
- Dôkaz existencie bičíkov na základe dôkazu pohybu baktérie:
- natívny preparát
  - kultivácia v U rúrke,
  - rast mimo miesta v pichu,
  - Raussov fenomén

# Fimbrie

- Mnohopočetné vlasovité útvary na povrchu bakteriálnej bunky
- Adherencia mikroorganizmu k inej bunke - bakteriálnej, ľudskej, alebo na neživé materiály - schopnosť odolať odplaveniu prúdom moču - kolonizácia moč. ciest *E. coli*
- Nástroj patogenity aj virulencie

# Pilli

- Extracelulárne prominujúce útvary G- baktérií spájajúce baktérie do párov (sex pilli) a podieľajúce sa na prenose genetickej informácie konjugáciou.
- Ich tvorba je často kódovaná v génoch plazmidov spolu s vlastnosťou, ktorú majú prenieť (napr. rezistencia na ATB)
- Sú dlhšie ako fimbrie a je ich obvykle menej



# Základné tvary baktérií

- **Guľovitý** - koky - streptokoky, stafylokoky, diplokoky, neissérie - usporiadanie
- **Pozdĺžny** - paličky (tyčinky), bacily - radenie, pomer dĺžky a hrúbky
- **Ohnutý a špirálovitý** - spirochéty, spirily, vibriá, kamylobaktery, helikobaktery - počet závitov, hustota, nasmerovanie koncov (*Leptospira interrogans* - ?)



# Fyziológia a metabolizmus baktérií

- Metabolizmus
- - katabolizmus a získavanie energie
- - anabolizmus - biosyntéza – proteosyntéza
- - ATB produkcia
- - rast a rozmnožovanie
- - rastové požiadavky
- - rastová krivka
- Využitie znalostí o rastových a nutričných požiadavkách pre diagnostiku

# Rastové požiadavky baktérií

- Zdroje energie, organického uhlíka, kovov (Fe), optimálna teplota, pH, prijateľnosť kyslík
- **C**
  - anorganický, CO<sub>2</sub> - autotrofné (litotrofné)
  - organický – heterotrofné (organotrofné)
- **Teplota**
  - *termofilné* (teplomilné)
  - *mezofilné* (30 – 37°C) väčšina patogénnych mikróbov
  - *psychrofilné* (studenomilné)
- **pH** - obvykle vyžadujúce fyziologické *neutrálne* pH, niektoré baktérie môžu byť
  - *acidofilné*, pH 4 – 5 (laktobacily, bifidobaktérie),
  - *alkalofilné*, pH 8,2 (*Vibrio cholerae*)

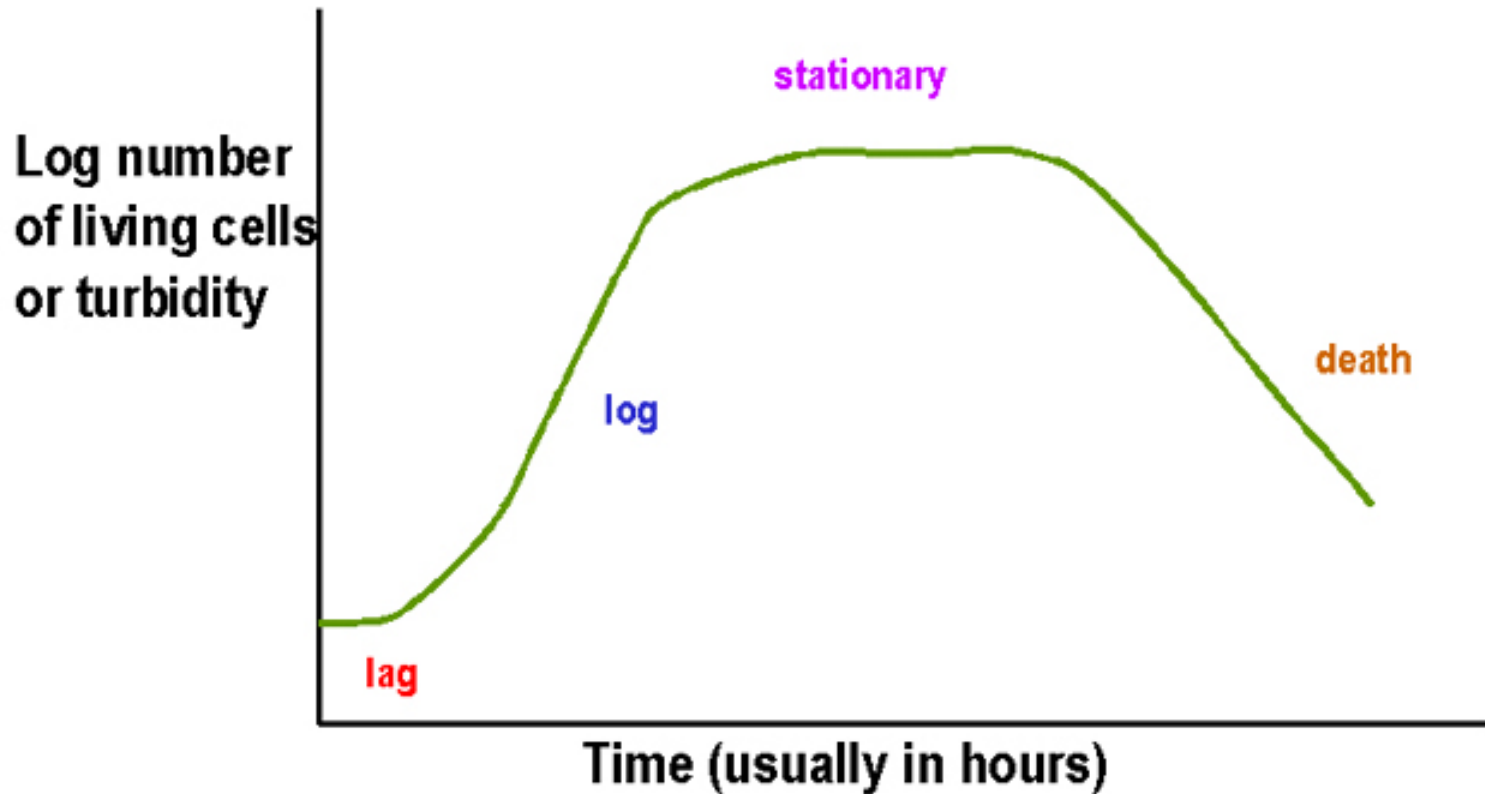
# Požiadavka na kyslík

- Na rozdiel od živočíšnej bunky, nie všetky baktérie striktne vyžadujú prostredie s kyslíkom
- **Obligátne anaeróbne** – vyžadujú prostredie bez kyslíka, kyslík je pre ne toxický – typ metabolizmu je fermentácia - nedostatok niektorých enzýmov na rozklad a detoxikáciu napr. peroxidu vodíka
- **Anaeróbne aerotolerantné** – anaeróbna respirácia (fermentácia), prežívanie aj za prítomnosti kyslíka
- **Obligátne aeróbne** – vyžadujú kyslík – typ metabolizmu oxydatívna fosforylácia (respirácia)
- **Fakultatívne anaeróbne** – znášajú kyslík aj bezkyslíkaté prostredie – fermentácia a respirácia
- **Mikroaerofilné** – vyžadujú znížený obsah kyslíka v prostredí. Normálny obsah kyslíka je pre ne toxický

# Rastová krivka

- 1 lag fáza - adaptačné obdobie, možný pokles žijúcich baktérií, prispôsobenie sa prostrediu
- 2 fáza zrýchleného rastu - prežívajúce bakteriálne bunky sa začínajú deliť
- 3 exponenciálna logaritmická fáza rastu - najrýchlejšie pomnožovanie
- 4 fáza spomaleného rastu – pre nedostatok živín a hromadenie odpad. látok
- 5 stacionárna fáza - prostredie sa stáva nevhodným, počet nových buniek nahradí počet odumretých
- 6 fáza poklesu - počet odumretých buniek je vyšší ako počet živých
- 7 autosterilizácia – mŕtve baktérie podliehajú autolýze

# Rastová krivka



The Growth Curve

# Rastová krivka

- 1 lag fáza - adaptačné obdobie, možný pokles žijúcich baktérií, prispôsobenie sa prostrediu
- 2 fáza zrýchleného rastu - prežívajúce bakteriálne bunky sa začínajú deliť
- 3 exponenciálna logaritmická fáza rastu - najrýchlejšie pomnožovanie
- 4 fáza spomaleného rastu – pre nedostatok živín a hromadenie odpad. látok
- 5 stacionárna fáza - prostredie sa stáva nevhodným, počet nových buniek nahradí počet odumretých
- 6 fáza poklesu - počet odumretých buniek je vyšší ako počet živých
- 7 autosterilizácia – mŕtve baktérie podliehajú autolýze

# Stacionárna kultivácia

- Kultivácia v laboratóriu:
  - Limitovaný obsah nutričných faktorov (presná výška agaru ) - stacionárna fáza - viditeľné izolované kolónie rastú z CFU - kolóniu tvoriaca jednotka - tkanivo alebo biologický materiál, z ktorého vyrastie 1 kolónia obsahujúca niekoľko tisíc baktérií

# Kultivácia

- Na identifikáciu patogéna je potrebné preniesť ho v biologickej vzorke z miesta infekcie na umelé médium a vytvoriť mu vyhovujúce prostredie
- Čistá kultúra - kolónie jediného bakteriálneho druhu alebo typu sa podrobia panelu testov na identifikáciu neznámej kolónie
- Toto je možné u veľkej väčšiny baktérií a húb, ktoré rastú na umelých médiách a sú biochemicky aktívne = priamy dôkaz patogéna - vizualizácia
- Kultivácia nie je možná u vírusov - nerastú na umelých médiách, vyžadujú živé systémy pre svoj rast. Identifikácia vyvolávateľa sa robí nepriamo na základe stanovenia protilátok



# Identifikácia neznámej kolónie

- Mikroskopia natívneho preparátu (pohyb) alebo Gramom zafarbeného preparátu (morfológia, štruktúra b. steny) G<sup>+</sup>, G<sup>-</sup>, paličky, koky, špirály
- Usporiadanie: napr. diplococcus, streptococcus
- Detekcia púzdra (aglutinácia, Burri)
- Schopnosť fermentácie substrátov - cukry, aminokyseliny- (biochemické vlastnosti)
- Identifikácia enzýmov- (fyziológia baktérie)  
citlivosť na ATB, a lýzu bakteriofágom
- požiadavky na kyslík