

Mikrobiológia praktické cvičenie – 5. týždeň

Farbenie bakteriálnych púzdier – Burriho tušová metóda

Vonkajšie štruktúry

Niektoré baktérie môžu obsahovať štruktúry, ktoré sa nachádzajú externe od bakteriálnej steny, ale sú súčasťou baktérie a môžu byť nástrojom jej patogenity alebo virulencie.

Púzdro (glycocalyx, S vrstva)

Takmer všetky baktérie produkujú v nadbytku extracelulárnu hmotu. Ak táto hmota pevne súvisí s povrchom bunkovej steny nazýva sa púzdro. Ak je len adherujúca, polymorfná, rôznej hrúbky alebo hustoty nazýva sa S vrstva. S výnimkou *Bacillus anthracis*, ktorý vytvára peptidové púzdro, všetky ostatné baktérie produkujú polysacharidové púzdro alebo S vrstvu. Jeden bakteriálny druh môže vytvárať niekoľko typov polysacharidových púzdier, ktoré sú potom základom pre rôzne antigénne typy bakteriálneho druhu (napr. *Streptococcus pneumoniae* sa vyskytuje až v 90 antigénnych typoch na základe rôznej chemickej štruktúry produkovaného púzdra). Polysacharidové púzdro je komplex opakujúcich sa relatívne chemicky jednoduchých štruktúr, ktoré majú antigénne vlastnosti. Polysacharidové púzdra sú tzv. na T- bunkách nezávislé antigény, ktoré sú schopné stimulovať imunitnú reakciu organizmu priamo, bez účasti T lymfocytou, čo má svoje následky. Takáto odpoveď je krátkodobá a menej protektívna. Deti do 3. roku života vzhľadom na nezrelý imunitný systém nie sú schopné protektívnej imunitnej odpovedi a sú ohrozené opúzdrenými mikroorganizmami. Povrchová extracelulárna vrstva nie je nevyhnutná pre rast in vitro a po niekoľkých generáciách sa schopnosť produkcie stráca. In vivo je baktéria schopná produkovať alebo nie extracelulárnu hmotu podľa toho, čo je výhodné pre jej prežívanie.

Praktické cvičenie č. 5

Farbenie bakteriálnych púzdier

- Extracelulárne štruktúry obalujúce baktérie, pevne priliehajúce k bb.
- Polysacharidové (len *B. anthracis* – polypeptidové)
- Nástroj patogenity – antifagocytárne vlastnosti, bráni vstupu antibiotík, má funkciu adhezínov
- Niektoré baktérie sú vo forme opúzdrených aj neopúzdrených kmeňov (*Haemophilus influenzae*) – opúzdrené sú virulentnejšie
- Púzdro sa môže v starých kolóniách strácať, alebo ho neopúzdrené kmene môžu získať transdukciou z opúzdrených

Mikroskopia

Dôkaz púzdra u *Klebsiella pneumoniae*.

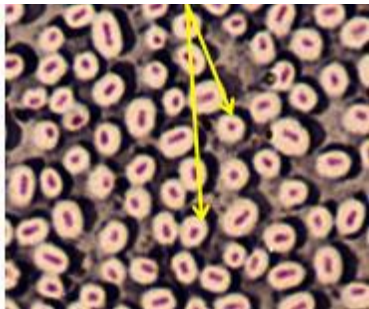
Zhotovte fixovaný preparát z kultúry *K. pneumoniae*, zafarbíte Burriho tušovou metódou, mikroskopujete.

POSTUP:

Burriho metóda na dôkaz púzdiar

- Na podložnom sklíčku sa urobí suspenzia vyšetrovanej kolónie a destilovanej vody
- K suspenzii sa pridá kvapka tušu a urobí sa tenký náter
- Preparát sa nechá uschnúť a fixuje sa teplom
- Potom sa dofarbí kryštálovou violeťou, veľmi opatrne opláchne vodou, nechá okvapkať a prezerá pod imerziou

Burriho tušová metóda sa používa na negatívne znázornenie baktériových púzdiar. Na dofarbenie baktériových tiel vo vnútri púzdra sa používa karbolfuchsin (telá budú ružové) alebo metylénová modrá (telá budú modré). Púzdra sa zviditeľnia na tmavom pozadí ako nezafarbené lemy okolo baktérií (obr. 96).



Obr. 96. Burriho tušová metóda. Bakteriálne púzdra sú nezafarbené.

<https://slideplayer.com/slide/6143488/>

Púzdra baktérií

- sú nástrojom virulencie

- Majú antifagocytárne vlastnosti – hydrofóbne skupiny . púzdra sa navzájom odpudzujú s hydrofilnými skupinami povrchu makrofágov. U zmiešaných infekcií, môžu opúzdrené kmene chrániť neopúzdrené pred fagocytózou. Hrubá vrstva extracelulárneho materiálu môže brániť

vstupu antibiotika do baktérie a je potrebná vyššia koncentrácia antibiotika (napr. pri infekcii pľúc baktériou *Pseudomonas aeruginosa* u pacienta s cystickou fibrózou)

- Niektoré môžu byť nástrojom adhérencie, slúžia ako adhezíny. (*Streptococcus mutans* – prichytenie sa na zubnú sklovinu a spôsobenie zubného kazu).

- Interakcia biofilmu, ktorý sa vytvára na umelohmotných alebo cudzích náhradných materiáloch (katétre, kĺbne a chlopňové náhrady) a ako adhezín pôsobiacich extracelulárnych vrstiev (*Staphylococcus epidermidis*) môže spôsobiť kolonizáciu týchto materiálov podmiennečne patogénnymi mikroorganizmami.

Klinicky významné opúzdrené baktérie: *Bacillus anthracis*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae*.

ZDROJE:

Kompaníková Jana, Elena Nováková, Martina Neuschlová: Mikrobiológia nielen pre medikov - 2. upravené a doplnené vydanie. Multimediálna podpora výučby klinických a zdravotníckych disciplín :: Portál Jesseniovej lekárskej fakulty Univerzity Komenského [online] , [cit. 26. 03. 2020]. Dostupný z WWW: <https://portal.ifmed.uniba.sk//clanky.php?aid=398>. ISSN 1337-7396.

Kompaníková Jana, Elena Nováková, Martina Neuschlová: Mikrob Learning - Mikrobiológia nielen pre medikov. Multimediálna podpora výučby klinických a zdravotníckych disciplín :: Portál Jesseniovej lekárskej fakulty Univerzity Komenského [online] , [cit. 26. 03. 2020]. Dostupný z WWW: <https://portal.ifmed.uniba.sk//clanky.php?aid=248>. ISSN 1337-7396.