

Jiří Schindler

Mikrobiologie

Pro studenty zdravotnických oborů

2., doplněné a přepracované vydání





Jiří Schindler

Mikrobiologie

Pro studenty zdravotnických oborů

2., doplněné a přepracované vydání

Upozornění pro čtenáře a uživatele této knihy

Všechna práva vyhrazena. Žádná část této tištěné či elektronické knihy nesmí být reprodukována a šířena v papírové, elektronické či jiné podobě bez předchozího písemného souhlasu nakladatele. Neoprávněné užití této knihy bude trestně stíháno.

Prof. MUDr. Jiří Schindler, DrSc.

MIKROBIOLOGIE

Pro studenty zdravotnických oborů

2., doplněné a přepracované vydání

TIRÁŽ TIŠTĚNÉ PUBLIKACE:

© Grada Publishing, a.s., 2014

Zdroje obrázků uvedeny v kapitole Poděkování

Ostatní obrázky z archivu autora

Technická kvalita některých obrázků je snížena vzhledem k množství a různé kvalitě zdrojů.

Cover Photo © fotobanka allphoto, 2014

Vydala Grada Publishing, a.s.

U Průhonu 22, Praha 7

jako svou 5548. publikaci

Odpovědná redaktorka Mgr. Ivana Podmolíková

Sazba a zlom Karel Mikula

Počet stran 224 + 24 stran barevné přílohy

2. vydání, Praha 2014

Vytiskly Tiskárny Havlíčkův Brod, a. s.

Názvy produktů, firem apod. použité v knize mohou být ochrannými známkami nebo registrovanými ochrannými známkami příslušných vlastníků, což není zvláštním způsobem vyznačeno.

Postupy a příklady v této knize, rovněž tak informace o lécích, jejich formách, dávování a aplikaci jsou sestaveny s nejlepším vědomím autorů. Z jejich praktického uplatnění ale nevyplynávají pro autory ani pro nakladatelství žádné právní důsledky.

ISBN 978-80-247-4771-2

TIRÁŽ ELEKTRONICKÉ PUBLIKACE:

ISBN 978-80-247-9275-0 ve formátu PDF

ISBN 978-80-247-9276-7 ve formátu EPUB

Obsah

Úvod	11
1 Lékařská mikrobiologie	13
2 Bakteriální buňka	15
2.1 Morfologie	15
2.2 Cytologie	17
2.3 Růst a množení bakterií	23
2.3.1 Růst v tekuté půdě	23
2.3.2 Růst na pevné půdě	25
2.4 Biofilm	27
2.4.1 Vznik a složení biofilmu	27
2.4.2 Biofilm a medicína	29
2.4.3 Rezistence buněk biofilmu k antibiotikům	31
2.5 Genetika bakterií	31
2.6 Nástroje patogenity a patogenese bakteriálních infekcí	34
2.6.1 Adherence, kolonizace	35
2.6.2 Tvorba toxinů, toxiny	37
2.6.3 Patogenní ostrovy v genomu	39
2.6.4 Perzistoři	41
2.7 Usmrcení bakterií	42
2.7.1 Fyzikální vlivy	44
2.7.2 Chemické vlivy	44
2.8 Klasifikace bakterií	45
3 Antibiotika	47
3.1 Charakteristika antibiotik	47
3.2 Vyšetření citlivosti bakterií k antibiotikům	50
3.3 Mechanismus účinku antibiotik	52
3.4 Rezistence bakterií k antibiotikům	54
3.4.1 Přirozená rezistence bakterií	54
3.4.2 Rozložení rezistence v populaci bakterií	54
3.4.3 Přenos rezistence	55
3.4.4 Rezistence změnou cílové struktury mutací	56
3.4.5 Enzymatická inaktivace antibiotik	57
3.5 Multirezistence	58

3.6	Problémové druhy bakterií z hlediska rezistence	59
3.6.1	Dynamika rezistence	59
3.6.2	Surveillance a monitorování rezistence	61
3.7	Budoucnost antimikrobní terapie	62
3.7.1	Nové látky	63
3.7.2	Nové cílové struktury	63
3.8	Omezování rezistence, racionální antibiotická politika	63
4	Speciální bakteriologie	65
4.1	Pyogenní koky	66
4.1.1	<i>Staphylococcus aureus</i>	66
4.1.2	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	69
4.1.3	<i>Streptokoky</i>	69
4.1.4	<i>Streptococcus pyogenes</i>	70
4.1.5	<i>Streptococcus agalactiae</i>	71
4.1.6	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	71
4.1.7	Ostatní streptokoky a „viridující streptokoky”	73
4.1.8	Enterokoky	74
4.1.9	Neisserie	74
4.2	Enterobacteriaceae	75
4.2.1	<i>Escherichia coli</i>	77
4.2.2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	78
4.2.3	<i>Enterobacter cloacae</i>	79
4.2.4	<i>Serratia marcescens</i>	79
4.2.5	<i>Proteus</i>	79
4.2.6	<i>Yersinia enterocolitica</i>	80
4.2.7	Salmonely	80
4.2.8	Shigelly	81
4.2.9	Vibria	82
4.3	Hemofily a bordetely	83
4.3.1	<i>Haemophilus influenzae</i>	83
4.3.2	<i>Bordetella pertussis</i> , <i>Bordetella parapertussis</i>	84
4.4	<i>Legionella pneumophila</i>	84
4.5	Gramnegativní nefermentující aerobní tyčky	85
4.5.1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	85
4.5.2	<i>Burkholderia cepacia</i> a <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	86
4.6	Mikroaerofilní pohyblivé prohnuté tyčky	86
4.6.1	<i>Campylobacter jejuni</i>	86

4.6.2	<i>Helicobacter pylori</i>	88
4.7	Spirochety	89
4.7.1	<i>Treponema pallidum</i>	89
4.7.2	<i>Borrelia burgdorferi</i>	90
4.7.3	<i>Leptospira interrogans</i>	91
4.8	<i>Rickettsia prowazekii</i> a <i>Coxiella burnetii</i>	92
4.9	Chlamydie	92
4.9.1	<i>Chlamydia trachomatis</i>	92
4.9.2	<i>Chlamydia psittaci</i>	93
4.9.3	<i>Chlamydia pneumoniae</i>	93
4.10	Anaerobní bakterie	94
4.10.1	Anaerobní koky	95
4.10.2	Gramnegativní anaerobní tyčky	95
4.10.3	Grampozitivní anaerobní tyčky	96
4.10.4	<i>Actinomyces israeli</i>	96
4.10.5	Klostridia	97
4.10.6	<i>Clostridium tetani</i>	97
4.10.7	<i>Clostridium botulinum</i>	99
4.10.8	<i>Clostridium perfringens</i>	99
4.10.9	<i>Clostridium difficile</i>	100
4.11	Grampozitivní tyčky	100
4.11.1	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	101
4.11.2	<i>Corynebacterium jeikeium</i>	102
4.11.3	<i>Listeria monocytogenes</i>	103
4.11.4	<i>Nocardia asteroides</i>	104
4.11.5	<i>Bacillus anthracis</i>	104
4.12	Mykobakterie	106
4.12.1	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	107
4.12.2	<i>Mycobacterium avium complex</i>	110
4.12.3	<i>Mycobacterium kansasii</i>	110
4.13	Bakterie bez buněčné stěny, mykoplazmata	110
4.13.1	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	112
5	Normální flóra	113
5.1	Význam mikrobiní flóry	113
5.2	Kolonizace povrchu těla a sliznic	114
6	Biologie virů	116
6.1	Klasifikace virů	117
6.2	Struktura virů	118

6.2.1	Symetrie virionu	118
6.3	Replikace virů	120
6.3.1	Adsorpce viru	121
6.3.2	Penetrace viru	121
6.3.3	Odstranění obalu	122
6.3.4	Aktivace genomu	122
6.3.5	Syntéza viru a uvolnění	124
6.3.6	Efektivita virové replikace	124
6.3.7	Cytopatogenní efekt	125
6.3.8	Výsledek infekce buňky	126
6.4	Patogeneze a rozvoj virové infekce	127
6.4.1	Brána vstupu	127
6.4.2	Primární pomnožení	127
6.4.3	Šíření k cílové tkáni či orgánu	128
6.4.4	Sekundární pomnožení	128
6.4.5	Vyloučení	128
6.5	Pomnožování virů v laboratoři	128
7	Speciální virologie	130
7.1	Adenoviry	130
7.2	Herpesviry	131
7.2.1	<i>Herpesvirus hominis</i>	131
7.2.2	<i>Varicella zoster virus</i>	132
7.2.3	Virus Epstein-Barrův	133
7.2.4	Cytomegalovirus	134
7.2.5	HHV 6 – HHV 7 (Roseolovirus)	135
7.3	Poxviry	135
7.3.1	Virus varioly	135
7.3.2	Virus vakcinie	136
7.3.3	Virus <i>Molluscum contagiosum</i>	137
7.4	Papovaviry	137
7.4.1	Papilomaviry	137
7.4.2	Polyomaviry	138
7.5	Pikornaviry	139
7.5.1	Enteroviry	139
7.5.2	<i>Poliovirus hominis</i>	140
7.5.3	Coxsackie viry (C-viry)	141
7.5.4	Echoviry	142
7.5.5	Rinoviry	142

7.5.6	Virus hepatitidy A	143
7.6	Ortomyxoviry	143
7.6.1	<i>Myxovirus influenzae</i>	143
7.7	Paramyxoviry	148
7.7.1	Viry parainfluenzy	149
7.7.2	Respirační syncytiální virus	149
7.7.3	Virus spalniček	149
7.7.4	Virus příušnic	149
7.8	Rubivirus	150
7.9	Virus vztekliny	150
7.10	Arboviry	151
7.10.1	Virus klíšťové encefalitidy	152
7.10.2	Virus žluté zimnice	153
7.10.3	Virus západodonilské encefalitidy	153
7.11	Arena viry	153
7.12	Viroví původci zánětu jater	154
7.12.1	Virus hepatitidy B	154
7.12.2	Virus hepatitidy C	155
7.12.3	Virus hepatitidy D	155
7.12.4	Virus hepatitidy E	155
7.13	Rotaviry	156
7.14	Caliciviry, astroviry, koronaviry	157
7.15	HIV, lidský virus ztráty imunity	158
7.16	Infekční jednotky podobné virům	160
7.17	Imunizace proti virovým onemocněním, virové vakcíny	161
7.17.1	Vlastnosti vakcíny	161
7.17.2	Inaktivované vakcíny	161
7.17.3	Živé vakcíny	162
7.17.4	Rekombinantní vakcíny	162
7.17.5	Vakcíny v praxi	163
7.18	Chemoterapie virových infekcí	163
8	Houby (Fungi)	166
8.1	Rod <i>Candida</i>	166
8.2	<i>Cryptococcus neoformans</i>	168
8.3	Rod <i>Aspergillus</i>	168
8.4	<i>Pneumocystis jiroveci</i>	169
8.5	Původci systémových endemických mykóz	169
8.6	Původci dermatomykóz	170

9 Prvoci (Protozoa)	171
9.1 <i>Trichomonas vaginalis</i>	171
9.2 <i>Cryptosporidium parvum</i>	172
9.3 <i>Entamoeba histolytica</i>	173
9.4 <i>Giardia lamblia</i>	174
9.5 Jiná parazitická protozoa menšího významu	175
10 Klinická mikrobiologie	176
10.1 Infekce horních cest dýchacích	177
10.1.1 Pneumonie v komunitě	177
10.1.2 Nozokomiální pneumonie	178
10.1.3 Bronchitida	178
10.2 Sepse	179
10.2.1 Zdroj nozokomiální sepse	180
10.2.2 Mikrobiologické vyšetření	181
10.3 Endokarditida	182
10.4 Močové infekce	183
10.4.1 Uretritida	184
10.4.2 Cystitida	184
10.4.3 Pyelonefritida	185
10.4.4 Prostatitida	185
10.4.5 Mikrobiologické vyšetření moči	185
10.5 Sexuálně přenosné infekce	186
10.6 Průjemová onemocnění	188
10.7 Infekce ran	190
10.8 Nemocniční infekce	191
11 Principy diagnostiky infekčních chorob	193
11.1 Odběr materiálu	196
11.2 Mikroskopické vyšetření vzorku	196
11.3 Kultivace	196
11.4 Identifikace bakterií	198
11.5 Testování citlivosti k antimikrobním látkám	202
11.6 Sdělení výsledku	202
11.7 Virologické vyšetření	203
12 Nové a obnovené infekční nemoci	205
Poděkování	207
Doporučená literatura	208
Rejstřík	209

Úvod

Lékařská mikrobiologie je mikrobiologie člověka pojednávající o původcích onemocnění i o nepatogenních mikrobech v těle a v jeho bezprostředním okolí.

Tato stručná učebnice lékařské mikrobiologie je zaměřena na studenty zdravotnických oborů, především na studentky a studenty bakalářského oboru všeobecná sestra.

Výběr, rozsah a hloubka látky vycházejí ze zkušenosti s výukou na tomto stupni a z realisticky pochopených potřeb v praxi. Hlavní snahou je, aby studenti poznali obecné souvislosti existence mikrobů a jejich vztahu k člověku. Cílem není memorování látky, ale její pochopení. Znalosti lékařské mikrobiologie jsou pro zvolený obor studia nástrojem a prostředkem orientace, jejich samostatné používání je však určeno lékařům.

Všichni studenti přicházející do prvního studijního kontaktu s lékařskou mikrobiologií si stěžují na obtížnost systematiky a množství jmen mikrobů, jež mají znát. Jejich stesky lze samozřejmě chápat. Z množství mikrobů byly proto v kapitolách speciální mikrobiologie, virologie, mykologie a parazitologie vybrány druhy, s nimiž se v povolání častěji setkají, nebo které znamenají ohrožení života pacienta. To je však vše, čím lze studium lékařské mikrobiologie ulehčit. Některé druhy mikrobů jsou probírány kvůli hrozbě bioterorizmu, jiné pro možnost epidemického šíření. Jména některých druhů mikrobů jsou uváděna pro seznámení a jako připomínka při případném výskytu v praxi. Každopádně je hlavním cílem studia vědět „Jak?“ a „Proč?“.

Problém výuky virologie u studentů zdravotnických oborů spočívá kromě jiného v tom, že viry pouhým okem nebo jednoduchým mikroskopem „nejsou vidět“. Druhy probíraných virů jsou vybrány podle závažnosti onemocnění, podle praktické potřeby studentů, zejména všeobecných sester, a podle epidemiologické naléhavosti.

Objem informací o virech může pro studenty zdravotnických oborů působit někde nepřiměřeně, je však potřebné poukázat na rozmanitost a komplikovanost ustrojení virů, a zdůraznit tak biomedicínský význam virových infekcí. Je na učiteli, aby své požadavky přizpůsobil svému pedagogickému záměru.

Vydavatelé se snažili umožnit prezentaci co nejvíce obrazového materiálu z archivu autora, případně elektronoptických snímků autorů

z významných světových pracovišť. Z technických a ekonomických důvodů však všechny kapitoly nemohly být názorně doplněny dostatečným počtem obrázků, a proto i počet barevných verzí obrázků byl omezen. Je opět na pedagogovi, který je hlavním mediátorem výuky, aby v přednáškách a praktických cvičeních potřebné doplnil.

1 Lékařská mikrobiologie

Mikroorganismy, které žijí v lidském těle, nejsou výhradně škodlivé. Člověk je s některými (převážně bakteriemi) ve vzájemném pozitivním vztahu. Člověk – hostitel – zajišťuje prostředí, z něhož bakterie těží živiny, a jejich metabolity jsou mu prospěšné. Příkladem je *Escherichia coli* v tlustém střevě, která obstarává menachinon – vitamin K, jenž je zpracováván v játrech při syntéze protrombinu, který má význam pro srážlivost krve. Určité druhy bakterií, virů, hub i prvoků jsou přítomny na sliznicích a na kůži, aniž by vyvolávaly onemocnění. Jsou to organismy nepatogenní. Vztah člověka jako hostitele a mikrobu je vztahem dynamickým, při němž se mění kvalita i kvantita mikrobu a současně s nimi i reakce organismu hostitele.

Lékařská mikrobiologie se zabývá jak mikroby, které jsou vysloveně patogenní, tak i takovými, které vyvolávají onemocnění jen za určitých podmínek, nejčastěji při snížení imunity hostitele. Zabývá se i mikroby v bezprostředním okolí člověka, které se na člověka přenášejí, a mikroby, které se na člověka přenášejí ze zvířat. Prvotními a nejdůležitějšími objekty jsou však mikroby patogenní.

Čtyři skupiny mikrobu se vztahem k člověku jsou od sebe více či méně biologicky vzdáleny. Jejich spektrum jde od nebuněčných **virů**, přes jednobuněčné **bakterie** schopné již samostatné existence, **houby** – složitější organismy s bohatou morfologií s organelami – až po parazitické jednobuněčné **prvoky** již podobné buňkám vyšších živočichů.

Kromě popisu vlastností těchto mikroorganismů se lékařská mikrobiologie zabývá způsobem zneškodňování původců onemocnění fyzikálními i chemickými vlivy, zejména antimikrobními látkami – **antibiotiky** a **antivirovými látkami**. Lékařská mikrobiologie se také zabývá teorií očkovacích látek a jejich přípravu.

Klinická mikrobiologie se zabývá infekčními onemocněními a podmínkami výskytu nemocničních **infekcí** u pacientů oslabených základním onemocněním a zároveň vystavených infekci z prostředí. Do tohoto oboru patří i **epidemiologie** používaná jako nástroj zkoumání šíření infekčních onemocnění v nemocnicích i v komunitě mimo ně. V neposlední řadě k lékařské mikrobiologii patří i zájem o **nová a znovu se vyskytující infekční onemocnění**.

Nejjednodušší organismy schopné reprodukce jsou **viry**. Jsou živé v tom smyslu, že se replikují, nejsou však schopny samostatné existence

(života), protože jsou závislé na hostitelské buňce. Jsou nejmenšími infekčními agens s jedním druhem nukleové kyseliny. K replikaci používají v různé míře aparát hostitelské buňky, kterou pak většinou ničí. Jsou tedy parazity na molekulární úrovni, protože využívají makromolekuly, zejména enzymy, pro svou reprodukci. Míra tohoto využívání, tedy míra relativní autonomie, je různá. Jejich původ je předmětem teorií. Podle **regresivní teorie** viry vznikly únikem z hostitelské buňky. Podle **teorie progresivní** je základem plazmid nebo transpozon, jehož DNA byla obalena bílkovinou a získala schopnost vniknutí do buňky. RNA viry mají původ v mRNA buňky. Byly by tedy vývojově mladší než bakterie. **Koevoluční teorie** praví, že se viry jako biologické struktury vyvíjely nezávisle a jsou na počátku vývojové řady organismů schopných množení. O žádné z těchto teorií nejsou důkazy a vývoj virů je zřejmě provždy tajemstvím.

Bakterie jsou nejstarší organismy na Zemi. Existuje jich něco mezi 300 000 a jedním milionem druhů, z nichž bylo nalezeno a popsáno na tři tisíce. Bakterie jsou **jednobuněčné organismy**, které si mohou obstarat energii a výživu z anorganických zdrojů. Evolucí se však tato vysoká nezávislost na prostředí změnila, některé bakterie se přizpůsobovaly prostředí, ztrácely schopnost stavby těla z anorganických zdrojů, potřebovaly doplnit výživu aminokyselinami, cukry i bílkovinami, a **adaptovaly** se dokonce na určitého hostitele, ačkoliv mohou růst i na relativně bohaté umělé půdě. Například *Streptococcus pyogenes* se vyskytuje jen u člověka. Některé bakterie ztratily schopnost růstu mimo buňku a jsou **obligatorními intracelulárními parazity**. Jejich strategií je množit se s co nejmenším vynaložením energie, což je vedlo k parazitizmu. Paradoxně však působí skutečnost, že činnost patogenu vede k smrti hostitele, čímž však je ohrožen sám patogen, protože logicky ztrácí možnost další existence.

Houby jsou mikroorganismy s rozvětvenými vlákny – myceliem, která mají průchodné přepážky, jsou mnohoaderná a cytoplazma či nukleové kyseliny jimi procházejí. Nepravé houby jsou kvasinkovité organismy, buď jednobuněčné, nebo tvoří mnohobuněčná vláknitá pseudomycelia.

Protozoa jsou jednobuněčné eukaryotické (mají jádro) organismy s organelami. Některé mají bičíky, jiné se pohybují pomocí pseudopodií jako améby.

2 Bakteriální buňka

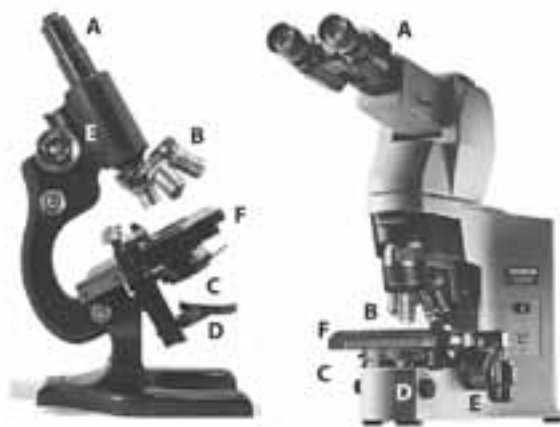
V průběhu evoluce trvající miliony let se bakterie rozrůznily jak ve způsobu života, tak svým tvarem a velikostí. Jejich velikost je od 0,2 μ až po 0,75 mm, některé druhy rostou při 0 °C a jiné při 113 °C, při pH 0,06 a pH 12, při tlaku více než 1000 atm, nebo v 32% nasyceném roztoku NaCl. Vlastnosti bakterií v okolí člověka jsou dány charakterem jeho životního prostředí a vlastnostmi hostitele.

2.1 Morfologie

Morfologie bakterií se studuje mikroskopickými metodami. V diagnostice se běžně používá pozorování obarvených usmrcených bakterií, v praxi kombinované **Gramovo barvení**. To kromě znázornění tvaru bakterií vypovídá o jejich charakteru – bakterie grampozitivní se od bakterií gramnegativních liší strukturou a jinými vlastnostmi, včetně mechanismu infekce.

Velikost nejmenšího objektu, který lze spatřit (při dané vlnové délce světla) **světelným mikroskopem**, je dána jeho **rozlišovací schopností**. Je to nejmenší vzdálenost dvou bodů (objektů), které lze jako dva body rozlišit. Užitečné zvětšení mikroskopu je takové zvětšení, jež umožní pozorovat objekt nejmenší rozlišitelné velikosti. **Celkové zvětšení** mikroskopu je dáno součinem zvětšení objektivu (např. 100 $\times$) a okuláru, kterým se zvětšený obraz pozoruje (např. 10 $\times$) (obr. 2.1). **Konfokální mikroskop** umožňuje ostře pozorovat objekt v rovině zaostření a překrýt obraz v rovinách nad a pod rovinou zaostření. Procházením rovin lze získat trojrozměrný obraz objektu. Obraz se zpracovává elektronicky pomocí vestavěného počítače. Jako zdroj světla se používá laserový paprsek, rozlišovací schopnost tohoto typu mikroskopu je proto větší než obyčejného světelného mikroskopu.

Elektronový mikroskop pracuje s elektrony, které mají menší vlnovou délku, má větší rozlišovací schopnost a umožňuje vyšší zvětšení. Paprsek elektronů buď objektem (např. ultratenkým řezem bakterie) prochází, nebo se od objektu (celé bakterie) odráží. **Transmisivní elektronová mikroskopie** pracuje s paprskem elektronů podobně jako světelný mikroskop se světelným paprskem. Procházející elektrony se zachycují, obraz se zvětší a fotografuje. Metoda umožňuje pozorovat

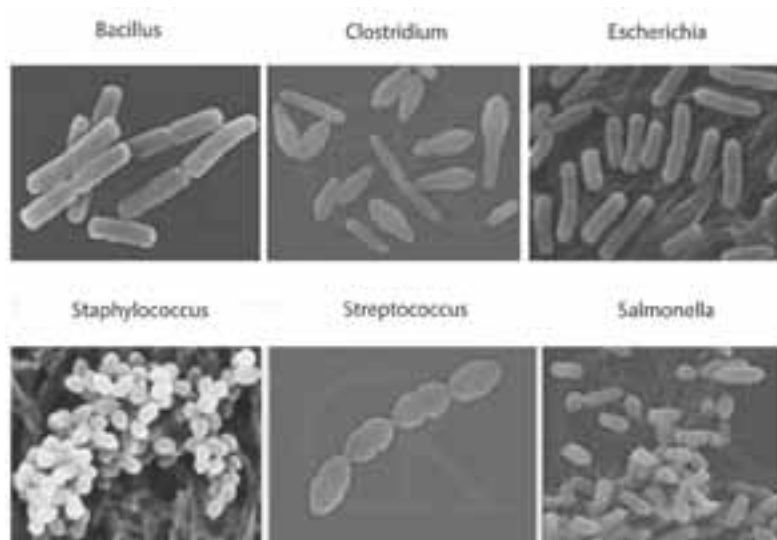


Obr. 2.1 Mikroskop starého typu dnes nepoužívaný (vlevo) a současný jednoduchý laboratorní mikroskop (vpravo). Hlavní části: A) objektiv (vpravo binokulární), B) sada objektivů na otočném měniči, C) kondenzor světla, D) zdroj světla (vlevo světlo z lampy odráží vzhůru zrcátko), E) zaostřovací šroub, F) stolek pro pozorovaný objekt

detaily buňky a virových částic. Ke kontrastnímu znázornění zvýraznění struktur se používá negativní barvení solemi těžkých kovů, které nepropouštějí elektrony (jedná se např. o uranyl acetát nebo molybdenan amonný). **Rastrovací elektronová mikroskopie** znázorňuje povrch objektu (bakterie, viru, leukocytu) tence potažený paprskem iontů kovu, např. platiny. Protože se pokovuje pod ostrým úhlem v místech, kam se kovové ionty nedostanou, vznikají stíny. Výsledkem je plastický trojrozměrný obraz.

Tvar a velikost bakterií

Velikost bakterií významných pro medicínu se pohybuje v řádu tisícín milimetru (μ). Stafylokoky a streptokoky jsou kulovité bakterie o průměru přibližně 1 μ . Kulovité bakterie jsou **koky**, **tyčky** různé délky buď pravidelného, nebo nepravidelného tvaru. Tyčky mohou mít **tvar kyjovitý** s rozšířením na jednom pólu (korynebakteria), **rohličkovitý** (vibrio), obloučkovitě nebo esovitě **zprohýbaný** (kampylobakter), spirálový či spíše **vývrtkový** (treponema), některé s nepravidelným



Obr. 2.2 Základní morfologické tvary bakterií

stoupáním závitů (borrelie) (obr. 2.2). Některé tyčky se za podmínek prostředí prodlužují do **vláken** (např. *Escherichia coli* v moči, legionely). Bakterie mohou být vyduuté sporou uvnitř cytoplazmy, uprostřed (centrálně), nebo na konci těla (subterminálně, terminálně). Aerobní sporulující bakterie jsou **bacily**, anaerobní **klostridia** (vypadají jako vřeteno – closter).

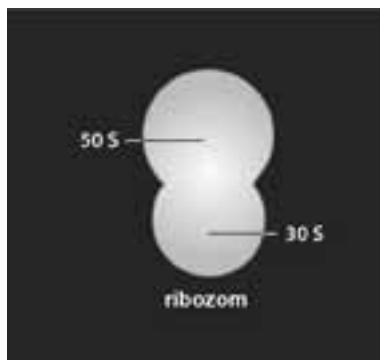
2.2 Cytologie

Navenek je bakterie ohraničena cytoplazmatickou membránou, tuhou a pevnou buněčnou stěnou, u grampozitivních bakterií silnější, u gramnegativních tenčí, které ještě mají na sobě složitou vnější membránu. S okolním prostředím se bakterie stýkají strukturami důležitými pro přilnutí buňky hostitele, pro pohyb, pro přenos genetické informace na jiné bakterie i jako čidla stavu vnějšího prostředí.

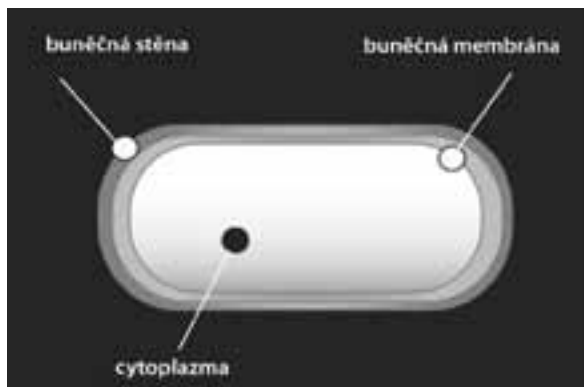
Bakteriální **chromozom** je tvořen jedinou molekulou dvouvláknové DNA, která je do sebe uzavřena. Vzhledem k délce buňky je velmi dlouhá, u *E. coli* měří 1 mm (obr. P1). Dvoušroubovice DNA

je dalším stočením zavinuta do nepravidelné struktury a pak svinuta do klubka. Aby klubko drželo pohromadě, je zpevňováno třemi bílkoviny. (Tento útvar se nazývá **nukleoid**, protože neobsahuje jen DNA, ale v malém množství i RNA a podobně jako jádro eukaryot i bílkovinu [přípona -oid naznačuje, že jde o podobnost jádru]) Chromozom nese geny a jejich soubor se označuje jako **genom**. Nejmenší bakteriální chromozom se skládá z 600 kilobází (kB), největší má 10 000 kB. Chromozom *E. coli* má asi 4500 kB a obsahuje na 4405 genů. Chromozom *E. coli* je dlouhý asi 1400 μ a při šetrném lyzování buňky je dobře patrná rozvinutá struktura. DNA určuje přímo **transkripci** – přepis či okopírování určitého úseku DNA na **mRNA**. Na ribosomech probíhá podle kódu na mRNA **translace**, což je řetězenní aminokyselin do peptidového (bílkovinného) řetězce. Aminokyseliny přivádí na ribozom, kde je již navázána mRNA, přenosová či transferová molekula ribonukleové kyseliny – **tRNA**. Každá tRNA je pro danou aminokyselinu specifická a přináší jenom ji. Výběr se řídí podle kódu, který na aktuálním úseku mRNA přečte. Tak geny řídí syntézu bílkoviny, kterou určují.

Cytoplazma nemá endoplazmatické retikulum. Obsahuje **ribozomy**, jež jsou nástrojem proteosyntézy (obr. 2.3). Skládají se ze dvou podjednotek, jsou asi 10–20 nm velké, v buňce jich je několik tisíc. Při sestavování molekul bílkovin jsou jakoby navlečeny na mRNA, jež obsahuje informaci, kterou aminokyselinu má právě tRNA napojit na polypeptidový řetěz. Některé druhy bakterií mají v cytoplazmě inkluze, z nichž jsou nejvýznamnější volutinová granula charakterizující *Corynebacterium diphtheriae*. Slouží jako zásoba energie.



Obr. 2.3 Ribozom prokaryotických buněk složený ze dvou částí značených podle hmotnosti 50 S a 30 S (CDC ATB)



Obr. 2.4 Ohraničení bakteriální buňky proti prostředí (CDC ATB)

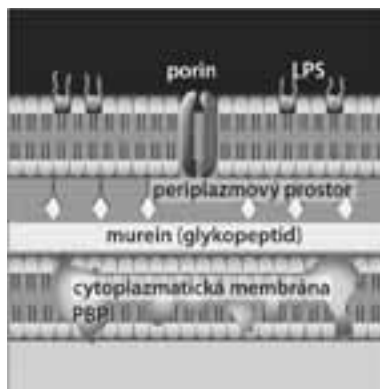
Cytoplazmu ohraničuje dvouvrstvá fosfolipidová **cytoplazmatická membrána**. Má jemnou strukturu, její povrch se elektronopticky ozřejmí speciální technikou odlomení. Obsahuje enzymy permeázy, které selektivně transportují látky, tj. živiny dovnitř, katabolity ven z buňky. Jsou na ní též enzymy, které syntetizují buněčnou stěnu.

Cytoplazmatická membrána naléhá na tuhou **buněčnou stěnu**, která určuje tvar bakteriální buňky a chrání ji mechanicky zvnějšku. Zevnitř odolává osmotickému tlaku (obr. 2.4). Když se buňka zbaví stěny, praskne. Pokud na buňku grampozitivní bakterie působí enzymem lysozymem, musí se vyrovnat vnější osmotický tlak sacharózou a z buňky se stane kulovitý **protoplast**. Buněčná stěna je pevná, silná kolem 20 nm, propouští molekuly menší než 1 nm. Je složena z řetězových makromolekul **peptidoglykanu (murein nebo glykopeptid)** síťovitě pospojovaných oligopeptidy. Tato struktura způsobuje její pevnost, tuhost a určitou omezenou elasticitu. Je silnější u grampozitivů, které obsahují ještě významnou kyselinu teichoovou. Buněčnou stěnu syntetizují enzymy transpeptidázy, které mohou také na sebe vázat penicilin (PBP – *penicillin binding proteins*) a tím být inaktivovány. Gramnegativní buňky mají ještě **vnější membránu**. Je hlavní permeabilní bariérou. Její strukturu lze z náhledu vidět elektronovým mikroskopem. Propouští pasivně vodu a selektivně některé látky s malou molekulou. V membráně jsou bílkoviny – **poriny**, jež propouštějí látky s malou molekulou. Dvě molekuly porinů k sobě přiléhají, mezi nimi

je pór, otvor, kterým molekuly procházejí do periplazmového prostoru a poté cytoplazmatickou membránou do nitra buňky (obr. 2.5).

Vnější membrána chrání peptidoglykan před účinkem lysozymu a je na ní vázán lipopolysacharid s výrazným biologickým účinkem. Mezi ní a buněčnou stěnou je **periplazmový prostor**, v němž jsou enzymy, které mají rozličnou funkci: transport, štěpení a pohyb. Jsou tu i β -laktamázy, enzymy inaktivující penicilin a jemu příbuzné β -laktamy. Grampozitivní bakterie tento prostor nemají a enzymy vylučují do prostředí, kde štěpí makromolekulární látky, např. bílkoviny. Štěpy o menší molekule se pak snadněji dostanou do buňky.

Na povrchu některých bakterií je dobře patrné **pouzdro** až 1 μ silné, které do určité míry chrání buňku před nepříznivými vlivy prostředí a zabraňuje fagocytóze – pohlcení leukocyty. Je většinou polysacharidové povahy (*Streptococcus pneumoniae*), někdy polypeptidové (*Bacillus anthracis*) či velmi tenké z kyseliny hyaluronové (*Streptococcus pyogenes*). Pouzdro, např. u pneumokoků, má specifickou antigenicitu, takže protilátky proti pneumokoku jednoho antigenního typu nechrání před infekcí jinými typy. Očkovací látka proti pneumokokovým infekcím proto musí obsahovat směs antigenních typů nejčastěji vyvolávajících infekce. Pneumokokové kmeny se **typizují** pomocí antisér proti jednotlivým typům. Specifické antisérum způsobí zbobtnání pouzdra, jež se pozoruje v mikroskopu. Polymerní hmota na povrchu bakterie je **glykokalyx**, produkovaná za určitých podmínek. Může to být pouzdro nebo neorganizovaná hlenová vrstva. Je nástrojem tvorby biofilmu, protože zajišťuje přilnutí na pevný povrch – na sliznici,



Obr. 2.5 Stavební součásti buněčné stěny a vnější membrány (CDC ATB)

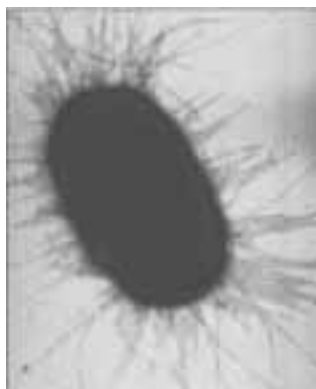


Obr. 2.6 Dlouhé bičíky *E. coli* neporušené preparací

zubní sklovinu, implantát. Oba pojmy, pouzdro a glykokalyx, se proto významově oddělují.

Bičíky jsou silné kolem 20 nm, tedy asi padesátkrát tenčí než šířka bakterie. Jsou křehké a snadno se odlamují (obr. 2.6). Běžným barvením nejsou vidět. V optickém mikroskopu je lze spatřit až po speciálním barvení, např. po impregnaci stříbrem. Bičík může být na pólu buňky jen jeden, nebo jich je více uspořádaných jako koňský ohon. Bičíky mohou pokrývat celé tělo bakterie (u salmonel, *Escherichia coli* nebo některých bacilů).

Elektronová mikroskopie umožnila poznat strukturu bičíku a mechaniku pohonu buňky. Bičík je složen z bílkovinných stavebních jednotek šroubovitě na sebe naskládaných. Vlákno bičíku se nehýbe jako bič, ale pohybuje se šroubovitou rotací po celé délce, je poháněno složitou bílkovinnou turbínou, již do pohybu uvádí proud protonů. Vnější vláknitá část bičíku je vsazena do duté ohnuté spojky, která může převádět rotační pohyb ve své ose. Spojka sedí na vnější membráně buňky a spojuje vlákno bičíku s motorem, který bičíkem pohybuje (obr. P2). Motor je složen ze šesti částí. Je pevně usazen v periplazmovém prostoru. Funguje podobně jako elektromotor, ale rotor roztáčí proud protonů nebo iontů sodíku procházejících do buňky. Točivý moment se přenáší na hřídel a přes ohebnou spojku na vlastní bičík.



Obr. 2.7 Elektronoptický snímek *E. coli* s dlouhými bičíky a krátkými fimbriemi, získaný speciální řádkovací technikou

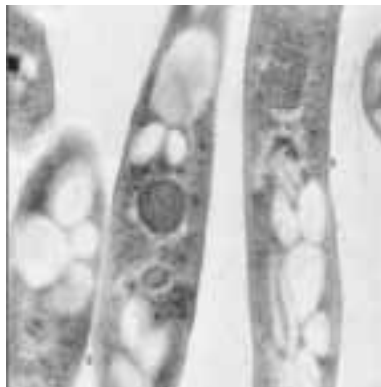
Bičíky *E. coli* rotují ve svazku rychlostí asi 18 000 otáček za minutu a posunují bakterii o 30 μ za vteřinu. Urazí tak desetinásobek své délky stejně jako automobil jedoucí rychlostí 100 km/hod. Bičíky se točí doleva a chvílemi se směr rotace obrátí. Pohyb **chemotaxí** směřuje ke zdroji živin nebo od toxických látek. Bakterie, které nemají bičíky, se mohou pohybovat jinými způsoby, např. klouzáním a trhavými pohyby těla.

Povrch buněk některých bakterií je pokryt kartáčkovitými výběžky – **fimbriemi**, jež vypadají jako chloupky, a proto se označují termínem **pili** (obr. 2.7). Jsou také složeny z bílkovin ve šroubovicovém uspořádání. Mají několikerou funkci: adherují na povrch sliznice, zakládají biofilm i na pevné neživé podložce. Fimbrií je několik typů. **Fimbrie typu 1** na povrchu enterobakterií se vážou na glykoproteinové receptory buněk sliznice. **Fimbrie typu 4** adherují i na bakterie, jsou relativně dlouhé, mohou smrštít a přitáhnout si buňku, na kterou se navázaly. Jsou to **fimbrie sex-specifické**, přítomné jen na samčích buňkách enterobakterií, a jsou nástrojem konjugace a přenosu DNA na jinou buňku.

Spory jsou klidové formy, které tvoří některé **vegetativní** bakterie při nepříznivých podmínkách, jako je vysušení, hladovění, vysoká teplota. Sporami si buňka zachovává život i při těchto podmínkách, ačkoliv má všechny životní funkce zastavené (obr. 2.8, 2.9). Spory jsou rezistentní k vysoké teplotě (100 °C), organickým rozpouštědlům a dezinfekčním látkám, iradiaci, kyselinám. Ačkoliv mají zastavený metabolismus, reagují na restituci podmínek, které umožňují život původní vegetativní buňce, a klíčí – germinují. Mají složitou strukturu, uvnitř



Obr. 2.8 Umístění spor uvnitř tyčinkovitých buněk *Bacillus cereus*



Obr. 2.9 Spory uvnitř buňky. Elektronoptický snímek řezu buňkami *Bacillus anthracis*

je dřeň obklopená vnitřní membránou, kůrou, obalem a vnějším **exosporiem**. Spory tvoří aerobní grampozitivní bakterie rodu *Bacillus* (*Bacillus anthracis*) a anaerobní rodu *Clostridium* (*Clostridium tetani*). Tělo buňky se většinou sporami vydouvá. Ničí se **autoklavací** – vystavení teplotě 120 °C po dobu 20 minut.

2.3 Růst a množení bakterií

Růst jedné individuální bakteriální buňky, to znamená zvětšování jejího objemu, syntézu makromolekul a vedlejších metabolitů až do momentu, kdy je růst dokončen, nelze sledovat (a pro praxi nemá velký význam). Před ukončením růstu se bakterie rozdělí, obě buňky, teoreticky rovnocenné, pokračují v růstu a cyklus se opakuje.

2.3.1 Růst v tekuté půdě

Velikost populace bakterií živých i mrtvých lze sledovat:

- přímo počítáním buněk v určitém (malém) objemu mikroskopem,
- měřením zákalu, který např. v jednotkovém objemu kultivační pudy způsobí nejméně statisíce buněk,
- vážením sušiny buněk odebraných z kultivační pudy.

(U obou posledních metod je ovšem nutné zákal, respektive hmotnost bakterií kalibrovat na počet buněk.)

Odběry a měření se mohou dít opakovaně ve zvolených časových intervalech a podle toho lze poznat průběh růstu populace bakterií, která se za laboratorních podmínek pěstování označuje jako **kultura bakterií**.

Předpokládejme, že se jedna bakterie dostane do tekutého živného prostředí. To lze provést experimentálně v laboratoři za optimálních podmínek. Tato jedna bakterie se za určitý čas rozdělí na dvě. Ony dvě buňky se rozdělí a v médiu jsou již čtyři, ze čtyř je pak osm atd. Evidentně lze předvídat, kolik by na konec teoreticky mohlo být v dané půdě bakterií, neboť konečný počet buněk B by byl 1×2^n . Tedy:

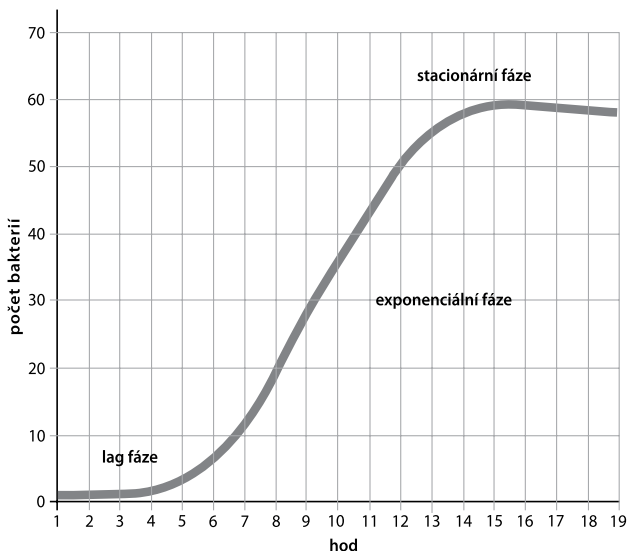
$$B = B_0 \times 2^n,$$

kdy B_0 je počet bakterií na počátku a n počet generací.

Generací se rozumí zdvojení počtu buněk. Buňky se rozdělují v určitém čase, což je tzv. **generační doba**. Čím je generační doba kratší, tím roste populace rychleji. Platí, že za optimálních podmínek je generační doba *E. coli* 20 minut, generační doba *Mycobacterium tuberculosis* je při kultivaci v laboratoři 36 hodin. **Rychlost množení** c je dána počtem generací za jednotku časovou t , např. za hodinu:

$$c = n/t$$

Zaznamenáváme-li počet buněk po naočkování do tekuté půdy v čase, získáme typickou **růstovou křivku**, z níž jsou zřejmé fáze množení. Po naočkování se buňky adaptují na nové podmínky a metabolismus se z klidové fáze přepíná na aktivní. Tato fáze, kdy buněk nepřibývá, je **lag fáze**. Pomalu a nesynchronně se buňky začínají dělit, křivka se ohýbá a přechází do fáze vyrovnaného růstu s konstantní maximální rychlostí množení, kdy se všechny buňky dělí stejným tempem a bílkoviny i nukleové kyseliny se syntetizují stejnou rychlostí. Počet buněk roste exponenciálně, proto se tento interval označuje jako **exponenciální fáze** (obr. 2.10). Lineární průběh je zřejmý po vynesení logaritmu počtu buněk v čase (odtud někdy používané označení logaritmická fáze). Rychlost množení se pozvolna snižuje a po fázi zpomalení se populace dostává do **stacionární fáze**, kdy buněk nepřibývá, ani



Obr. 2.10 Základní fáze růstové křivky bakterií

neubývá. Po další době začne živých buněk ubývat a populace je ve **fázi hynutí**. Proč kultura přechází do stacionární fáze, když prokazatelně nejsou vyčerpány živiny, není zcela vysvětleno (jistě mohou být vyčerpány limitní živiny a nahromadují se toxické metabolity).

V optimální tekuté půdě (živném bujonu) se za 18 hodin namnoží modelová bakterie *E. coli* při teplotě 35 °C do koncentrace 10^9 buněk/ml. Při pohledu je původně čirá kultivační půda ve zkumavce mléčně zakašená, je slabě průsvitná a neprůhledná. Takto rostou nepříliš náročné střevní bakterie, pseudomonády, stafylokoky.

2.3.2 Růst na pevné půdě

Bakterie se pěstují na živných půdách v kulatých skleněných nebo plastových miskách. Rostou v kupkách, kterým se výstižně říká kolonie, neboť osídlují určité území.

Zpočátku se bakterie pěstovaly v přirozených tekutých půdách i v těch umělých, jako je masový bujon, ovšem nebylo možno od sebe oddělit bakterie různých druhů. To umožnily až agarové půdy.