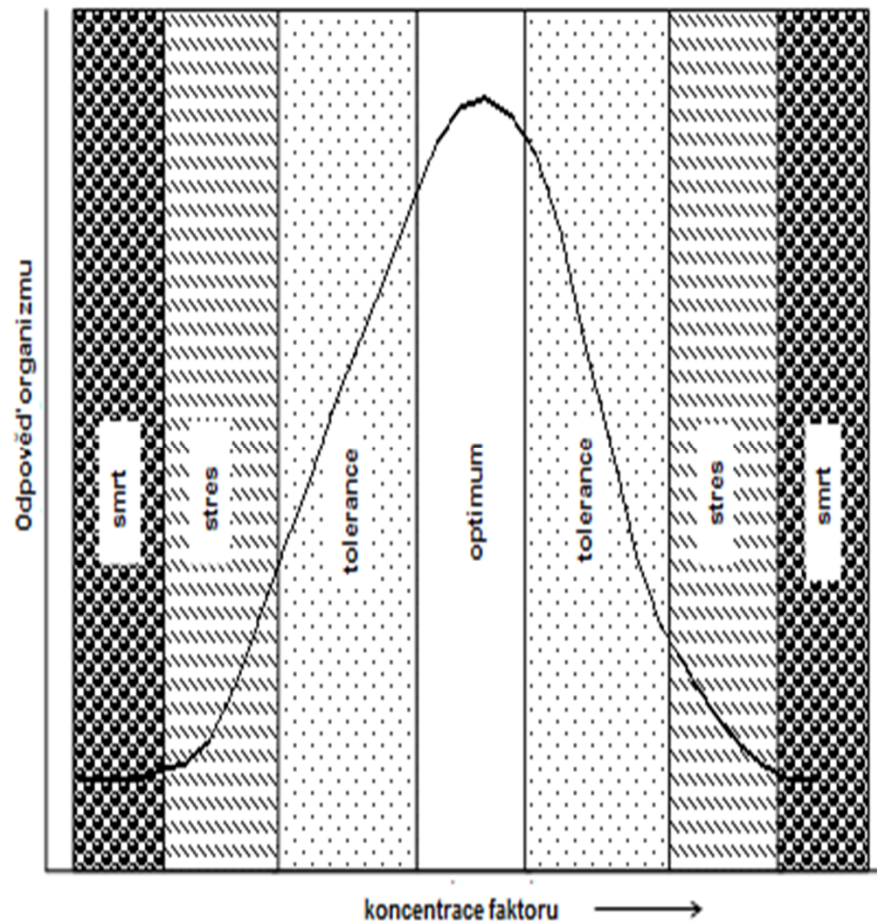


# Mikroorganizmy a vnější prostředí

# Mikroorganizmy a vnější prostředí

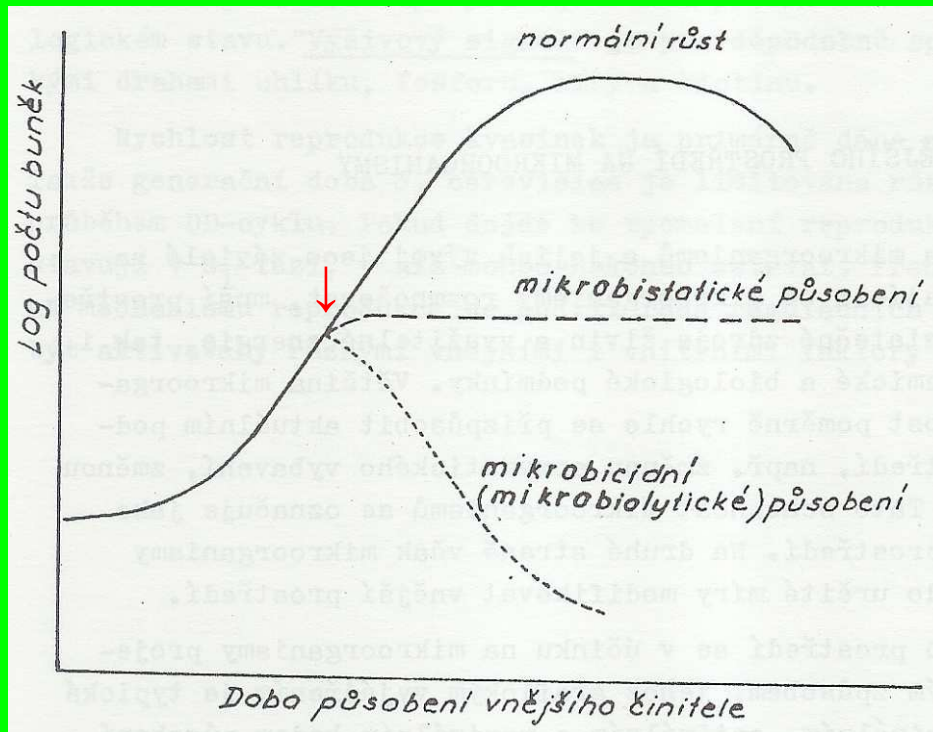
- Životní aktivita mikroorganismů a jejich vývoj jsou závislé na životních podmínkách – vnějším prostředí
- Vnější prostředí musí obsahovat dostatečné zdroje živin, využitelné zdroje energie a vhodné fyzikální, chemické a biologické podmínky
- Většina mikroorganismů se dokáže poměrně snadno přizpůsobit 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 zaznaménáme ještě odpověď organismu
- Průběh křivky je shodný pro inhibiční i stimulační faktory

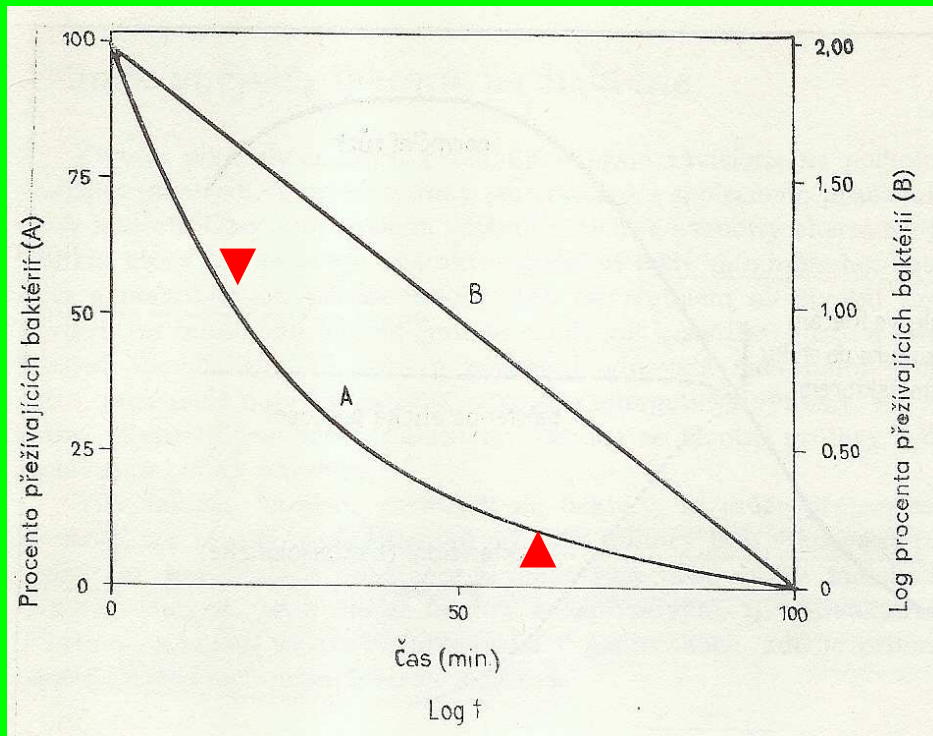
# Mikroorganizmy a vnější prostředí



- **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 irreverzibilní 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

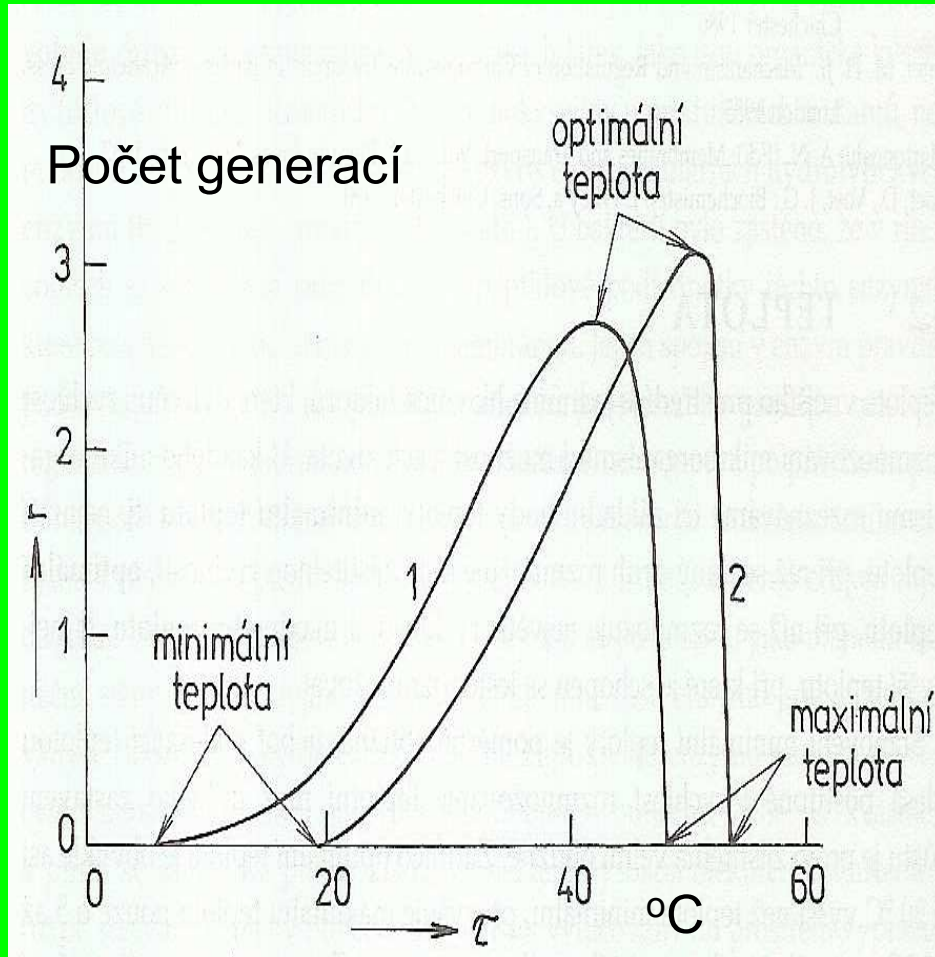
- \* pH
- \* Oxidoredukční potenciál
- \* Povrchově aktivní látky
- \* Dezinfekční látky
- \* Těžké kovy
- \* Chemoterapeutika
- \* Antibiotika



# Fyzikální faktory - **sucho**

- Většina mikroorganismů vyžaduje **volně přístupnou vodu**
- Některé aktinomycety mohou využívat i vodu hygroscopickou (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<sup>-</sup> 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>							.....				

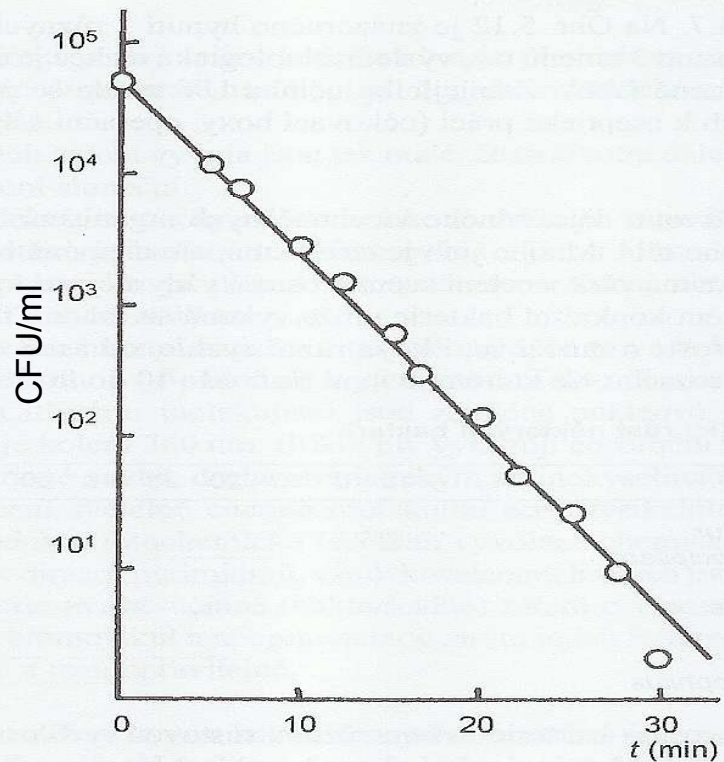
- **Psychrofilní** – rostou při teplotách pod +20°C (0 – 5). Výskyt – oceány, hluboká jezera, studené prameny. Některé organizmy mohou růst i při -10°C. V laboratorních podmínkách se snadno přizpůsobí vyšším teplotám
- **Mezofilní** – růst při +20 – 40 °C. Většina organismů saprofytických i parazitických
- **Termofilní** – teplota růstu +30 – 90 °C ,v chlévské 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,...)

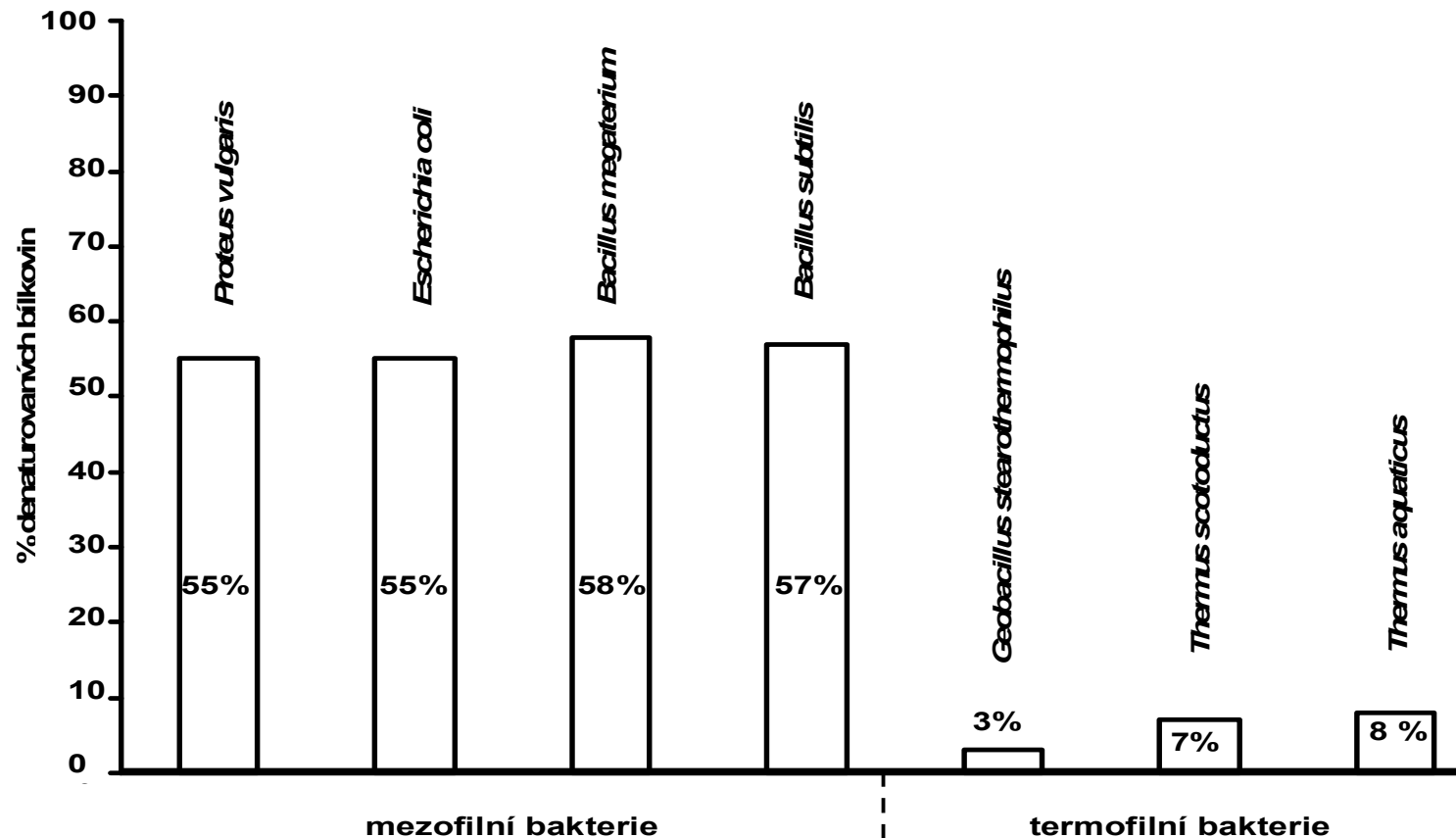
# Fyzikální faktory – sterilizace teplem

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 "		



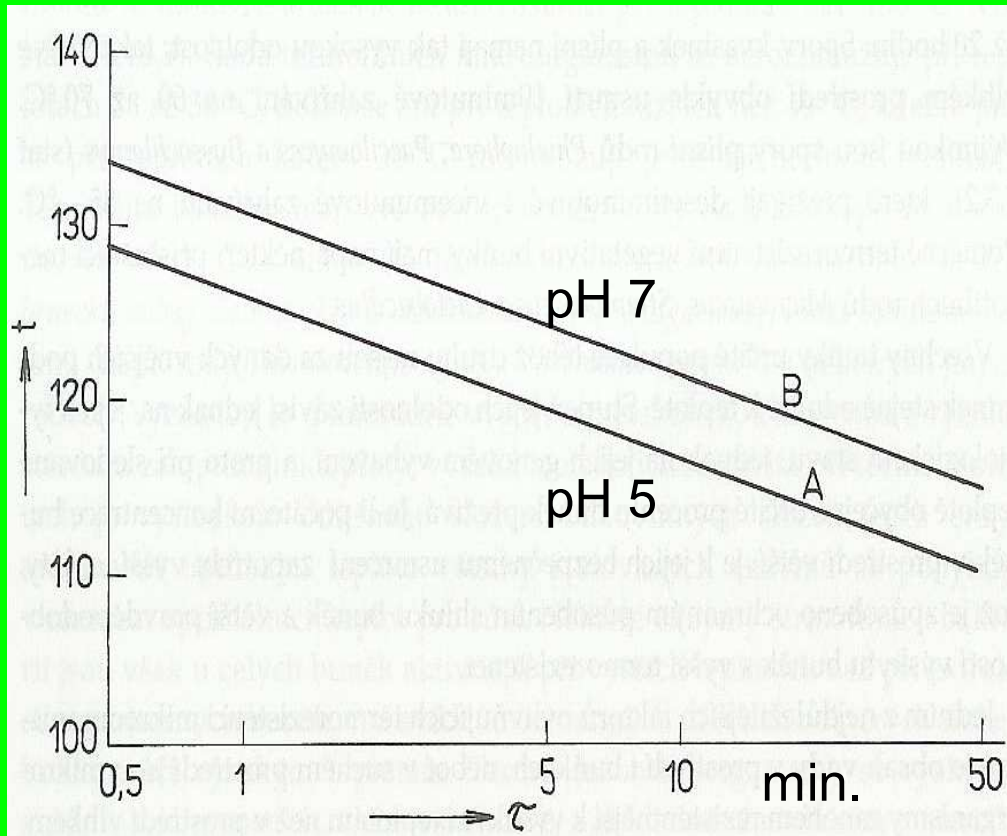
Přetlak		Teplota vodní páry (°C)		
MPa	(atm)	čistá vodní pára	polovina vzduchu odstraněna	žádný vzduch neodstraněn
0,03	0,33	109	94	72
0,07	0,67	115	105	90
0,10	1,00	121	112	100

# Fyzikální faktory – letální účinek tepla



Denaturace cytoplazmatických bílkovin mezofilů a termofilů při teplotě 60°C

# Fyzikální faktory – sterilizace teplem



Přežívání spor *C. botulinum*

$t$  – teplota sterilizace- °C

$\tau$  - doba sterilizace (min.)

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

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

# 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 – pasteurace

- 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

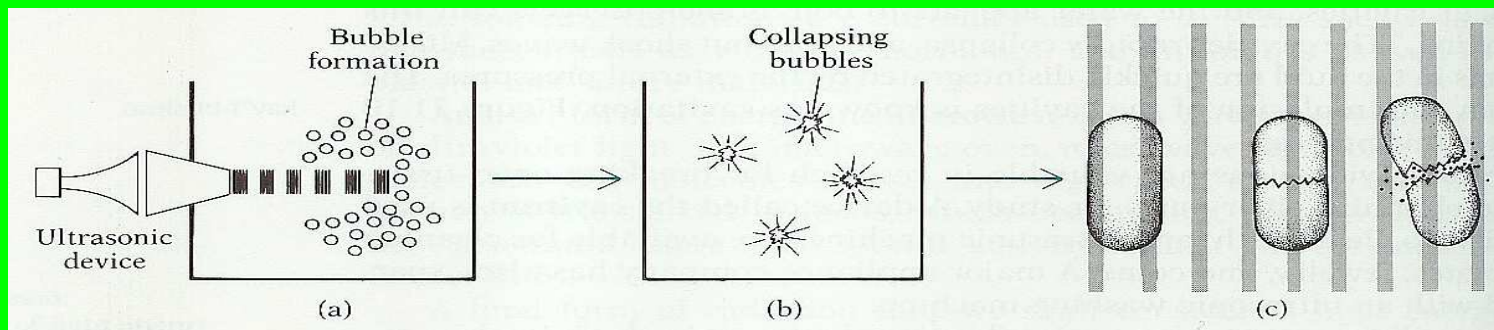
- Většina mikroorganismů žije za normálního atmosférického tlaku. Běžným bakteriím zvýšený tlak vadí nepatrně – do 10MPa (100 atm) neovlivňují vůbec životní projevy
- Tlaky 10 – 50 MPa zastavují růst i množení.
- Barotolerantní bakterie – v oceánech do hloubky 4000 m
- Barofilní bakterie – hloubky větší 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

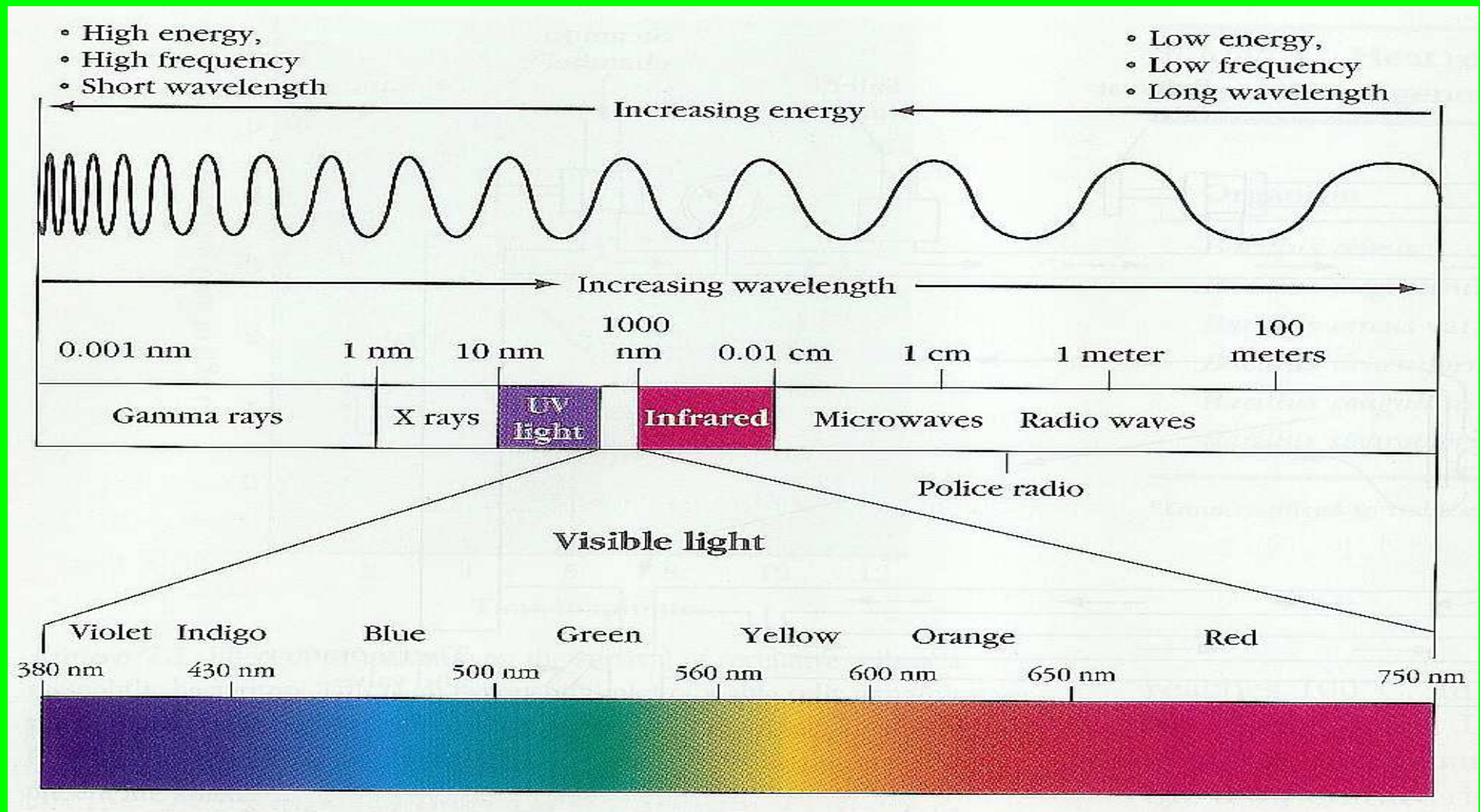
- **Ultrazvuk** je akustické vlnění, jehož frekvence se pohybuje kolem 20kHz. Někteří živočichové část ultrazvukového spektra vnímají a případně i vydávají (delfíni, psi, netopýři) a využívají jej k běžné komunikaci nebo echolokaci
- ultrazvuk méně ovlivněn ohybem. Výrazný je jeho odraz od překážek, 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  $10 \text{ W/cm}^2$
- **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

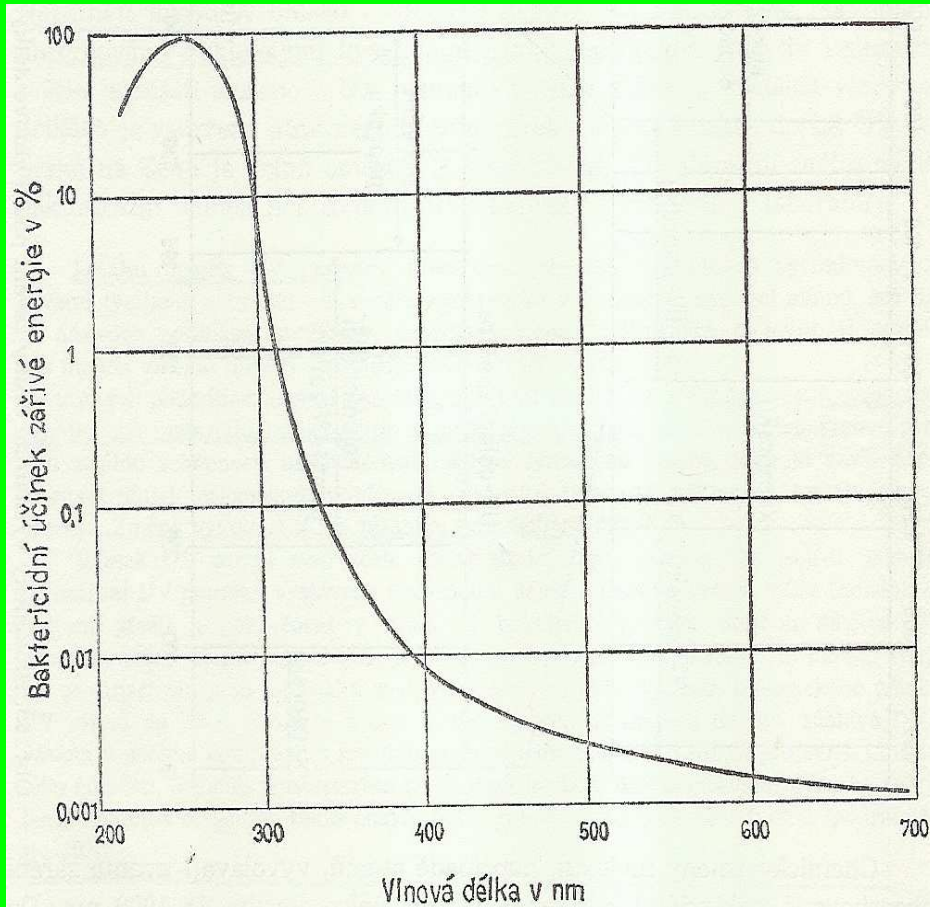
**akustické vlnění** - zvláštní případ mechanického vlnění

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

# Fyzikální faktory – záření

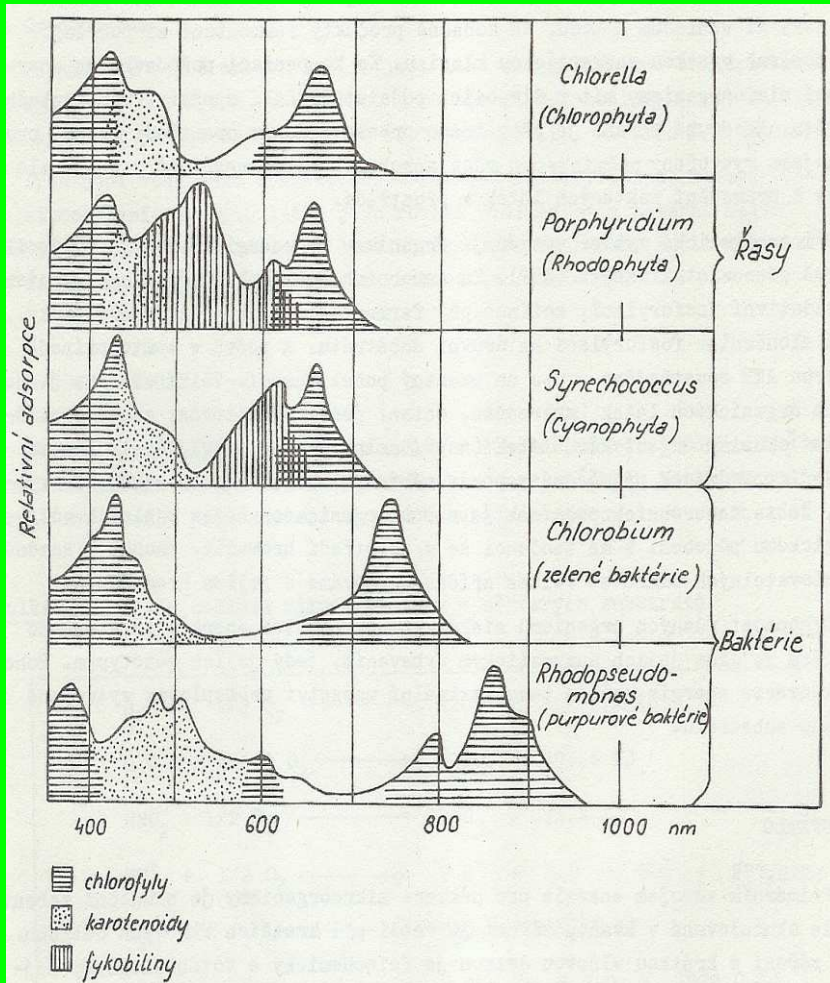
- **Korpuskulární (částicové) záření** – proud částí (uspořádaný pohyb velkého množství částic)
- částicové záření (např.)
- záření alfa – proud alfa částic, jader atomů helia
- záření beta – proud elektronů a pozitronů
- elektromagnetické záření
  - záření gama, ultrafialové záření, ionizující záření, 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



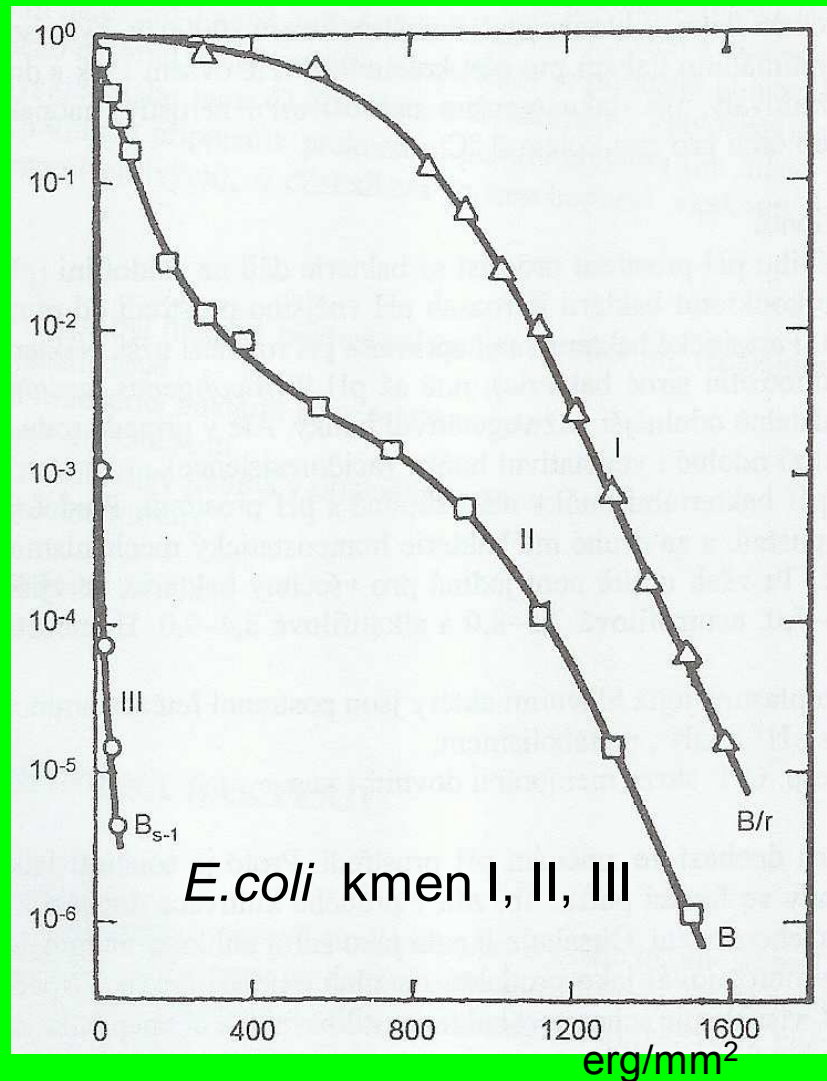
- Na mikroorganismus působí škodlivě každé záření, které je buňkou adsorbováno a vyvolává v ní chemické změny
- Míra účinku je závislá na množství získané energie – kvantu
- Energie ve světelném kvantu nepřímo závisí na vlnové délce
- Chemické změny molekul nebo atomů, vyvolávají kvanta o vlnové délce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

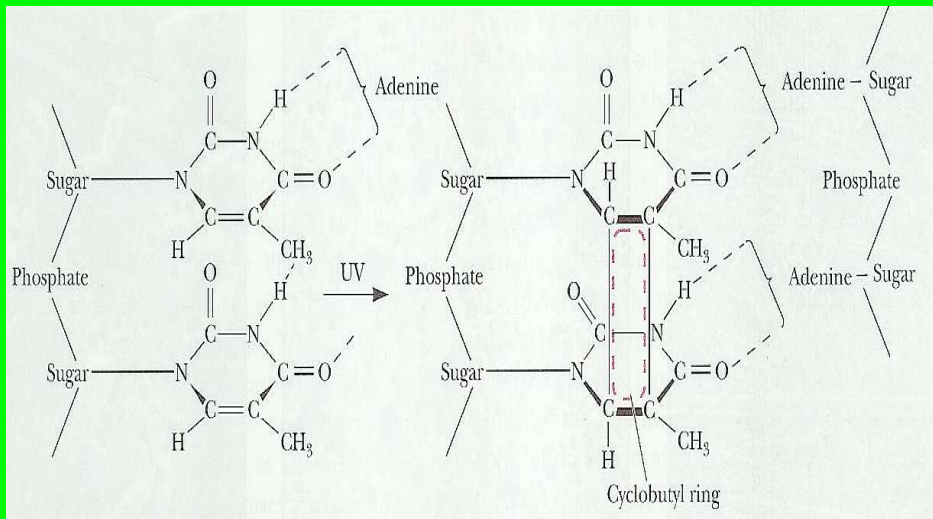


- Silné mutagenní a letální účinky
- Nejčastěji se využívá v oblasti s vlnovou délkou kolem 265 nm
- Vlnové délky germicidních lamp – 210-310 nm
- Intenzita účinku je závislá na množství pohlceného záření a klesá se čtvercem vzdálenosti od zdroje
- Pronikavost UV je velmi malá – využití pro sterilizaci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

- patří ještě mezi neionizující záření
- blízké ultrafialové záření – 400-200nm

**UVA** – 400-315nm – dlouhovlnné „černé světlo“; používá se pro kultivaci některých bakterií

**UVB** – 315-280 – středněvlnné světlo; negativně působí na bílkoviny a DNA. Proniká i vodou (do hloubky několika metrů)

**UVC** – < 280 nm – krátkovlnné „dezinfekční“ ; působí na DNA, jeho působením vzniká ozón; jeho penetrace je podstatně větší než u UVB

- daleké ultrafialové záření – 200-10 nm; významný vznik ozónu

# Fyzikální faktory – X a $\gamma$ 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 O<sub>2</sub>, látky silně redukující (askorbová kyselina, sulfhydrylové skupiny) působí protektivně
- K dosažení letální dávky pro mikroorganismy je potřebí 10<sup>4</sup> 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

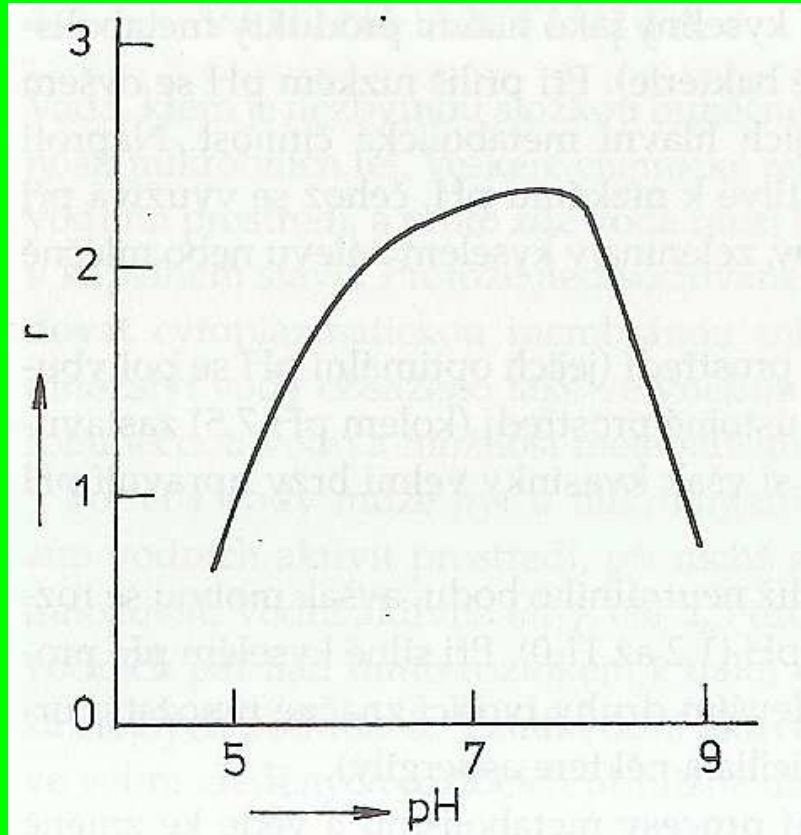
- \*Dezinfekční látky

- \*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*)

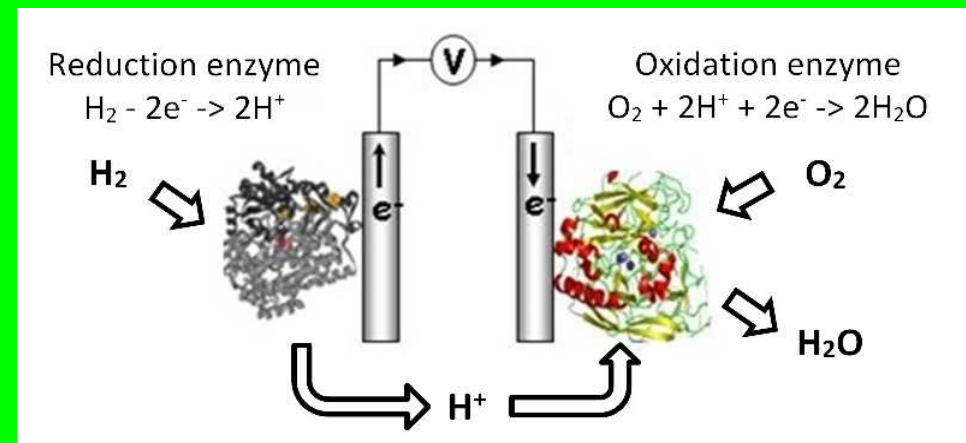
# Chemické faktory - $E_H$

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)  
↓ stronger reducing agent (blue arrow)

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

$E_H$  je dán přítomností oxidujících a redukujících látek

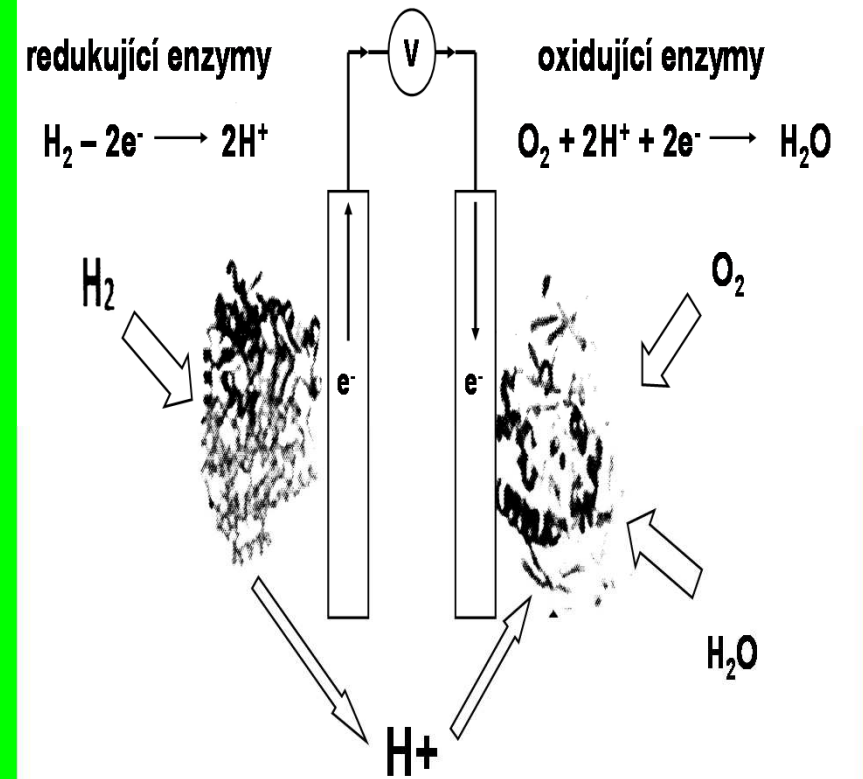
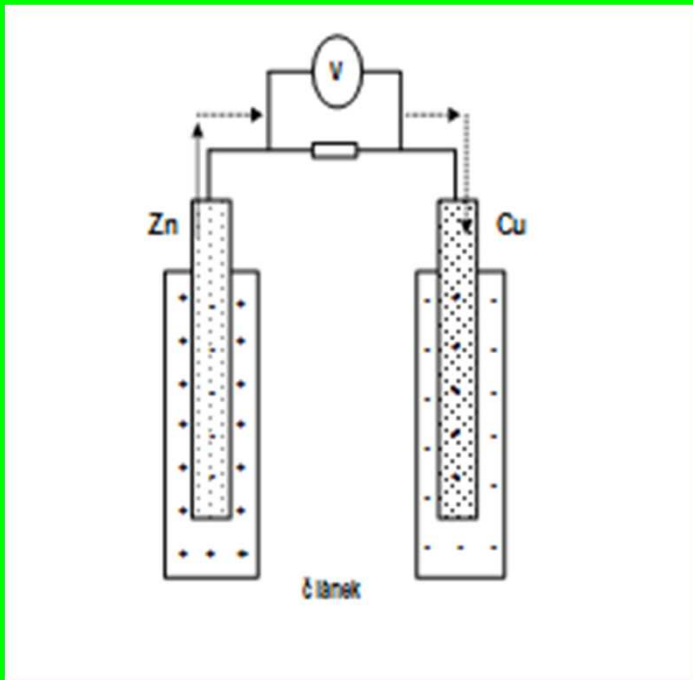


# Chemické faktory - $E_H$

- **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 - $E_H$

- Stanovení potenciálu

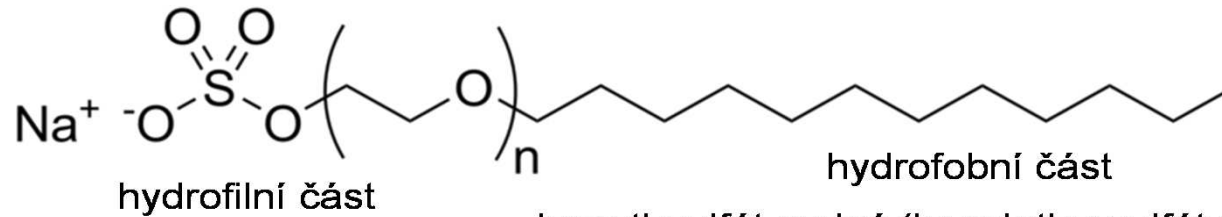


# Chemické faktory - povrchově aktivní látky

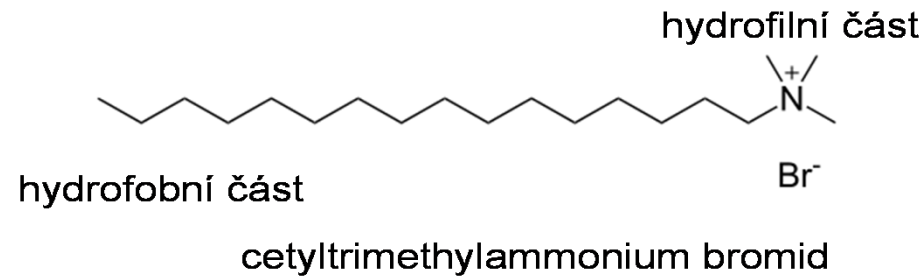
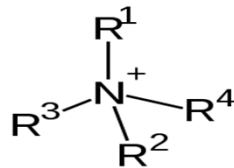
- Sloučeniny s molekulou tvořenou hydrofilní a hydrofobní částí
- Jejich přidáním do media se snižuje jeho povrchové napětí – tenzidy (smáčedla)
- **Anionaktivní tenzidy** (aniontová smáčedla) – mýdla
- **Kationaktivní tenzidy** (kationtová detergencia) – invertní mýdla
- **Neionogenní tenzidy** (neionizovaná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

# Chemické faktory - povrchově aktivní látky

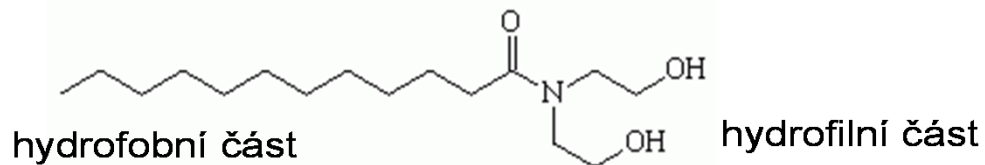
## anionický tenzid



## kationický tenzid



## neionogenní tenzid



kokamid diethanolamin (cocamide DEA)



# Chemické faktory

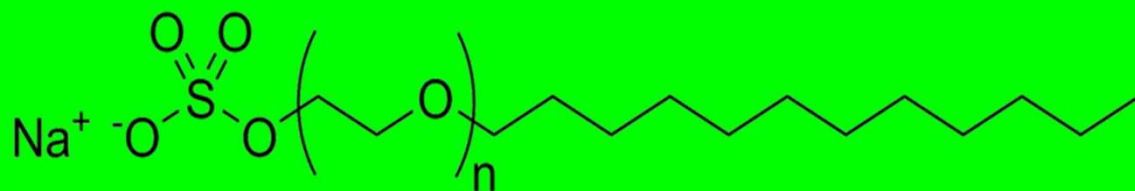
## anionaktivní tenzidy

- \* 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



sodiumdodecyl sulfát

# Chemické faktory

## anionaktivní tenzidy

- Funkční skupiny -  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{SO}_3\text{H}$ ,  $-\text{OSO}_3\text{H}$ ,  $-\text{OPO}(\text{OH})_2$ 
  - \*monofunkční  $\text{R-COOMe}$  (alkalická mýdla vyšších mastných kyselin)
  - \*bifunkční – 2 polární skupiny (obě nebo jedna disociována)  $\text{R-xR1-COOMe}$  (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, ....

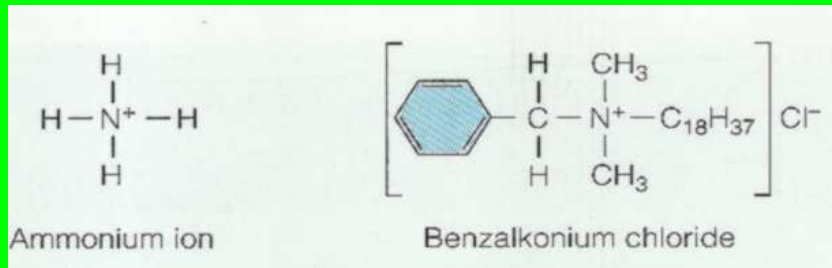


# Chemické faktory - kationaktivní tenzidy

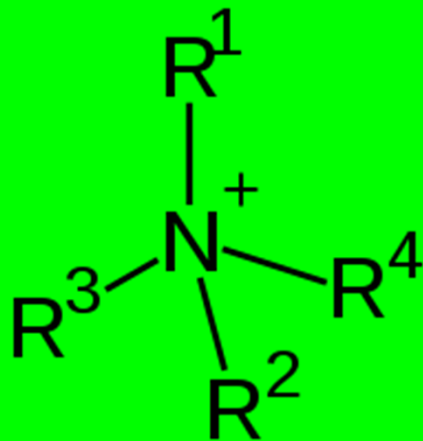
- Význam těchto tenzidů spočívá především v dezinfekčních a antiseptických účincích
- Kationaktivní tenzidy vytvářejí adsorpční vrstvy na povrchu mikroorganismů. Vytvořená vrstva brání vazbě molekul substrátu na vazebná místa na buněčné stěně (omezení výživy)
- Přípravky nepoškozují pokožku a toxicita 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
- Bez dusíkaté organické sloučeniny – obsahují S, J, P
- Kvarterní amoniové sole působí baktericidně (především na G<sup>+</sup>, méně na G<sup>-</sup>), fungicidně, amoebicidně, virucidně
- Nepůsobí na mykobakterie a bakteriální endospóry
- Smáčecí schopnost je malá



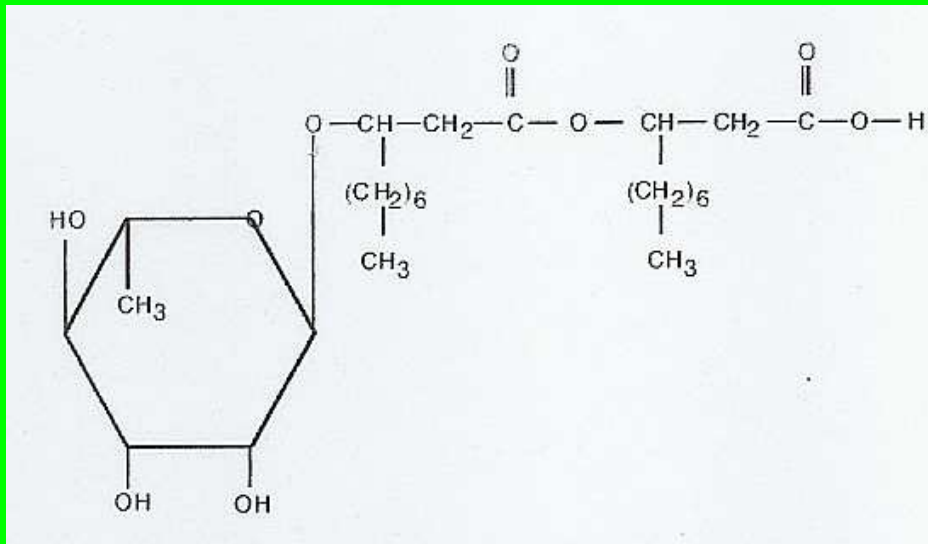
# Chemické faktory – neionogenní tenzidy

- \* 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 pění
- Nízka toxicita

# Chemické faktory – neionogenní tenzidy



( $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl- $\beta$ -hydroxydecanoyl-  
 $\beta$ -hydroxydecanoate)

- Rozpustnost ve vodě je dána jejich silnou afinitou k  $\text{H}_2\text{O}$
- Tenzidy s eterickým můstkem [ $\text{R}-\text{O}(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_n\text{H}$ ]
- 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

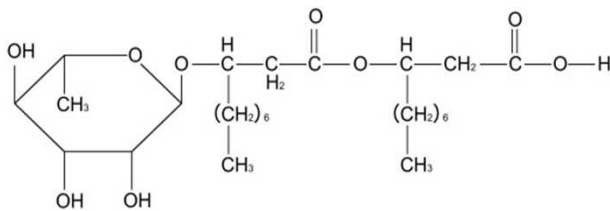


# Chemické faktory – biosurfaktanty (biotenzidy)

- \* 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)

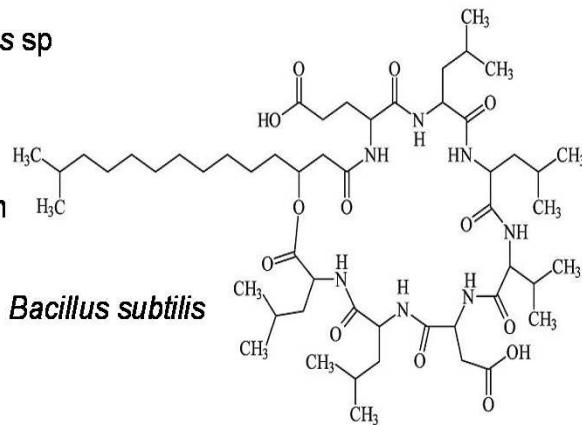
rhamnolipid



producent *Pseudomonas* sp

lipopeptid surfaktin

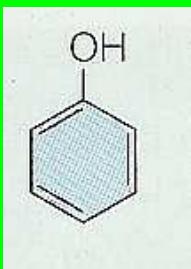
producent *Bacillus subtilis*



- 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 )

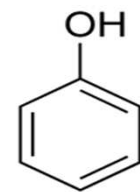
# Dezinfekční látky

- 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 ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{KMnO}_4$ )
  - barviva,
  - syntetické tenzidy,
  - některé plyny

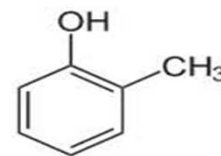


# Dezinfekční látky - fenol

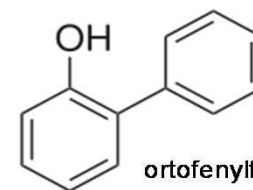
- Účinek – snížení povrchového napětí prostředí s následným porušením buněčné stěny
- Při koncentraci vyšší než 1% má výrazný antimikrobiální účinek
- Používá se pro dezinfekci kontaminovaných nástrojů, sputa, moči, .....
- **Fenolový koeficient** – pro srovnání účinnosti dezinfekční přípravků (poměr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



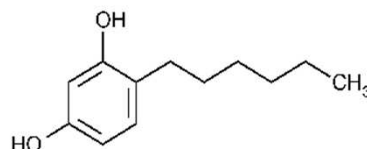
fenol



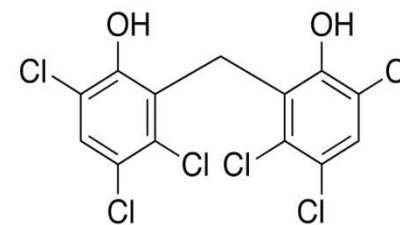
o-kresol



ortofenylfenol



hexylresorcinol



hexachlorofen

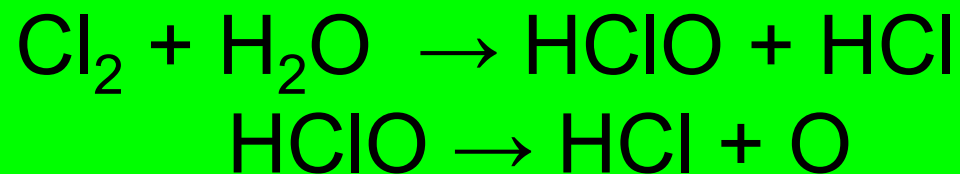
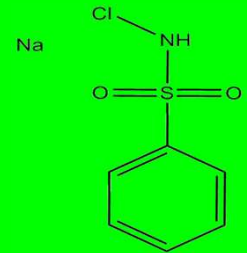
# Dezinfekční látky - **alkoholy**

- 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

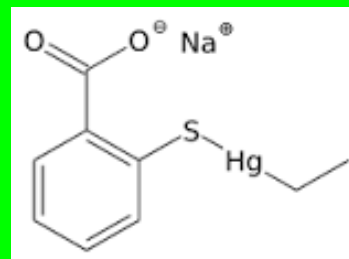
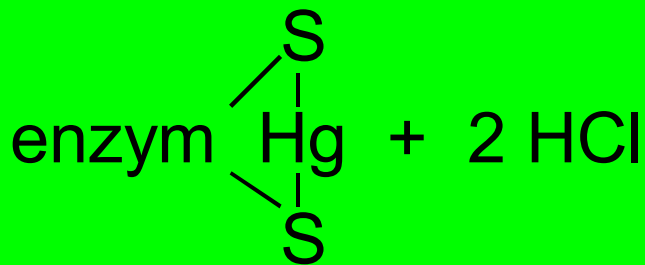
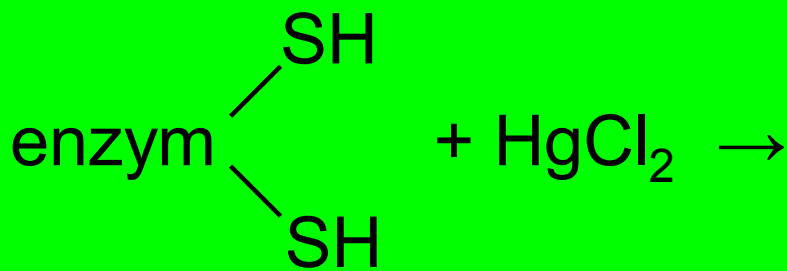


# Dezinfekční látky – těžké kovy

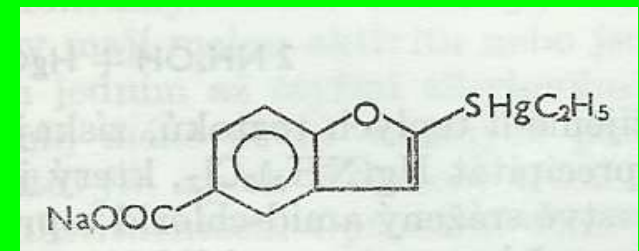
- **Ag** aplikace jako  $\text{AgNO}_3$  ve formě organických nebo anorganických solí
- 1884 – prevence oftalmie u novorozenců ( $\text{AgNO}_3$ )
- Stříbrné ionty jsou velmi reaktivní s bílkoviny a chloridy – to omezuje jejich použití pro použití jako povrchového antiseptika
- Nyní se používají koloidně 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, bakteriocidní 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,..
- HgCl<sub>2</sub> a Hg<sub>2</sub>O(CN)<sub>2</sub> jsou silně toxické – použití pro dezinfekci – korozivní účinky
- Organokovové sloučeniny rtuti -



Thiomersal



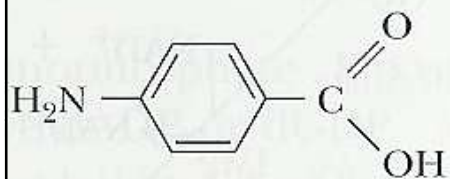
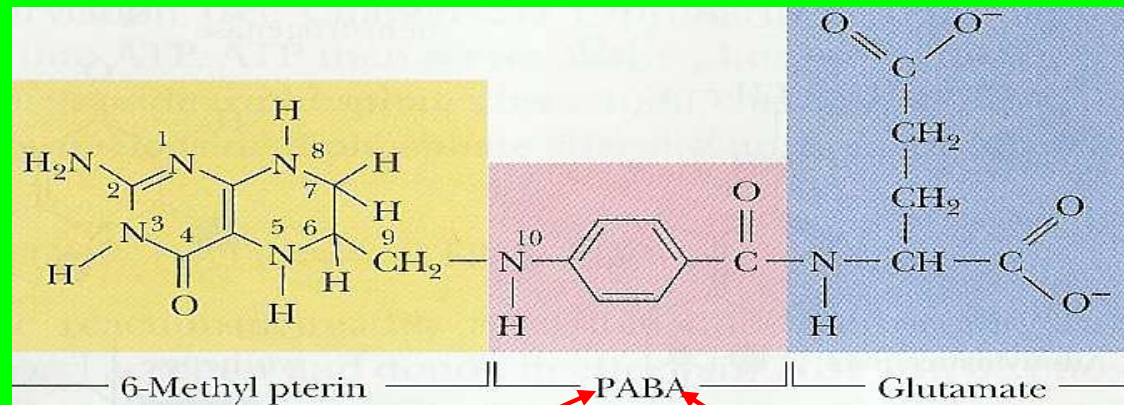
Cialit

# Chemoterapeutika

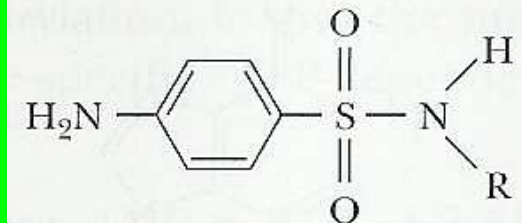
- Mají selektivní antibakteriální (mikrobistatický) účinek
- Inhibují pochody vedoucí k syntéze koenzymů, bílkovin a nukleových kyselin
- Jsou **strukturálními analogy** esenciálních látek, ale mají větší afinitu k enzymům
- **Jejich inhibiční efekt je možné odstranit nadbytkem esenciální látky**

# Chemoterapeutika - sulfonamidy

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

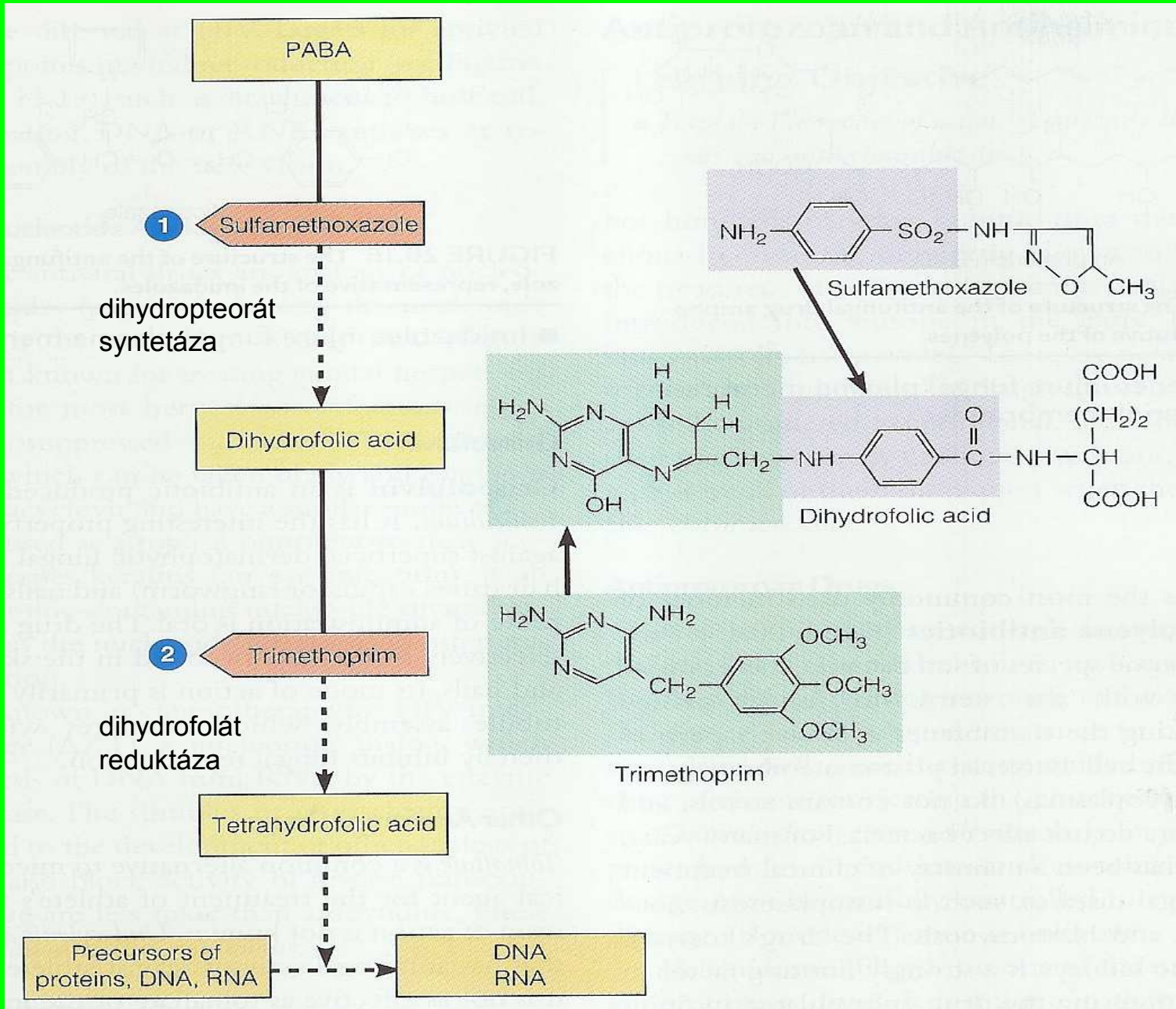


Kys. p-aminobenzoová (PABA)



Sulfonamid – strukturální analog

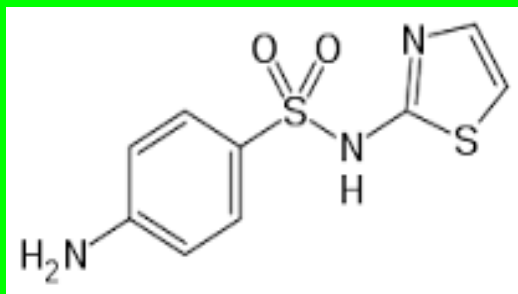
# Chemoterapeutika - sulfonamidy



# 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



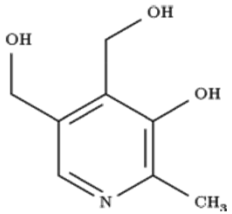
sulthiazol



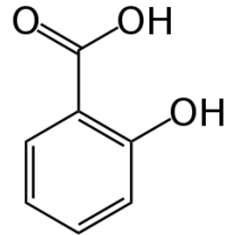
sulfixazol (sulfafurazol)

# Chemoterapeutika

## esenciální látka

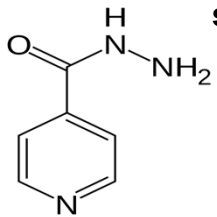


pyridoxin (pyridoxol)

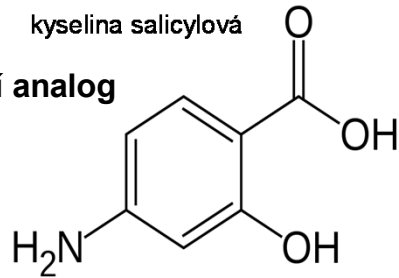


kyselina salicylová

## strukturální analog

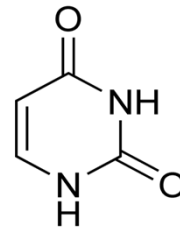


isonicotinylhydrazin  
(isoniazid, INH)



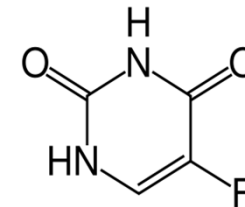
4-aminosalicylová kyselina  
(PAS)

## esenciální látka

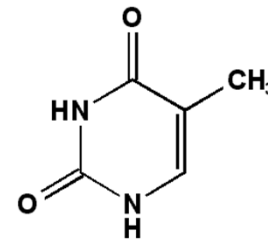


uracil

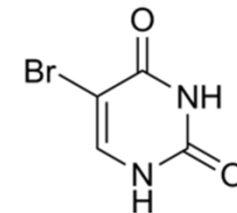
## strukturální analog



5-fluorouracil



tymin



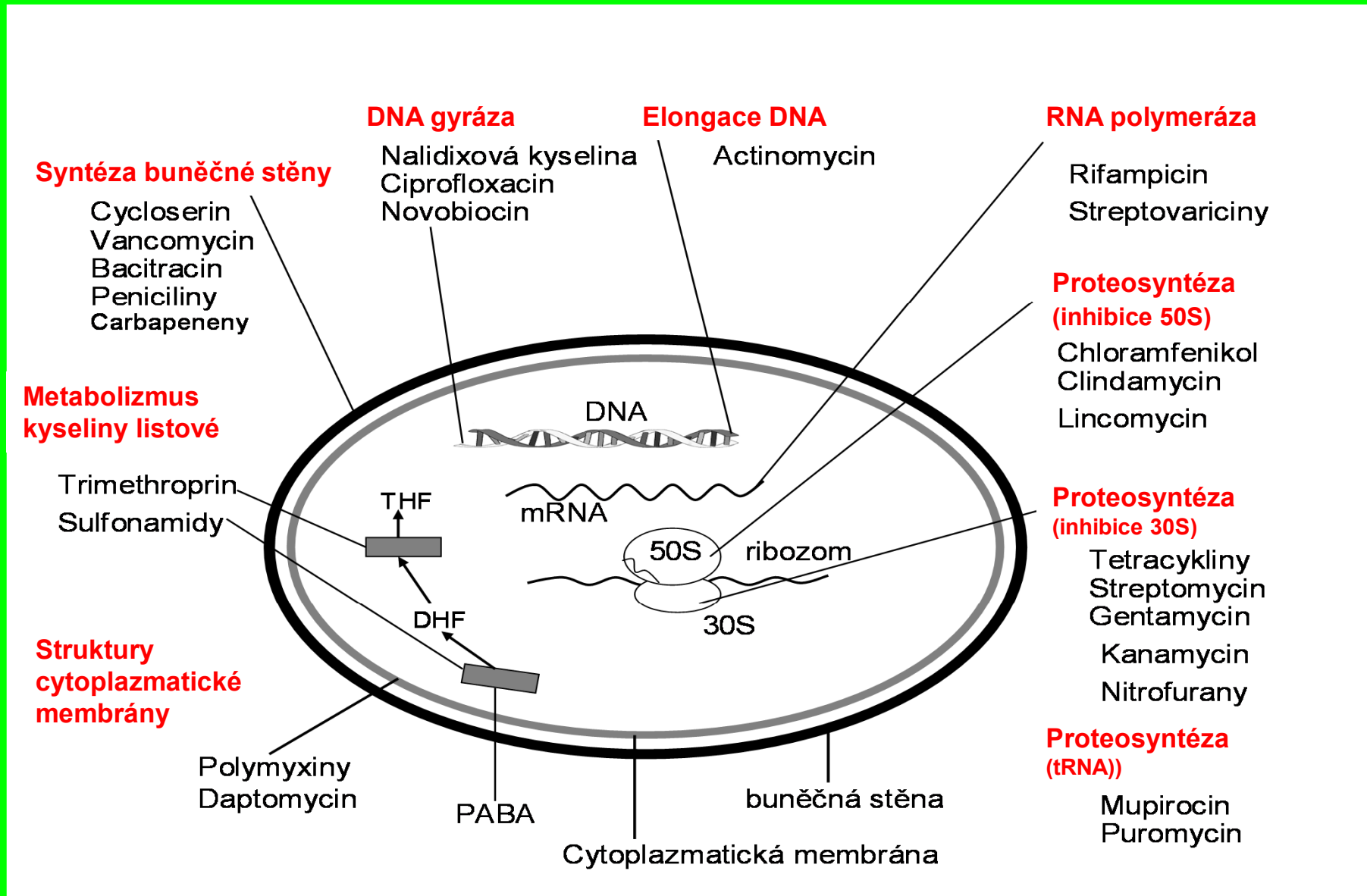
5-bromuracil

# 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 **bakteristatická**. První skupina bakterie hubí (tj. usmrcuje), bakteristatická zastavují jejich množení, ale mnoho bakteristatických antibiotik působí ve vyšších koncentracích rovněž baktericidně. Oba dva typy jsou nicméně schopné potlačit růst kolonií ***in vitro***

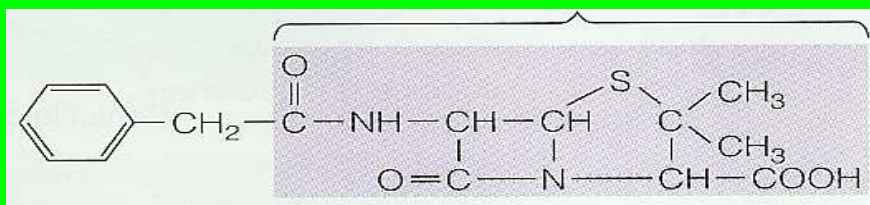
# Antibiotika

## 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,

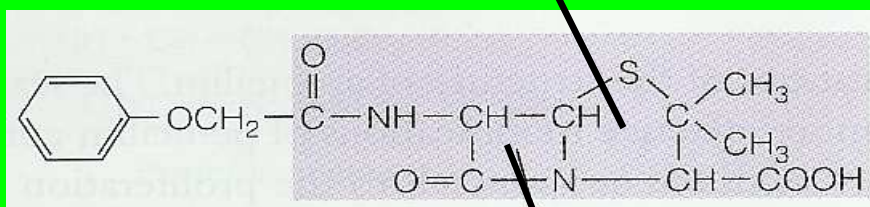
# Antibiotika - Inhibice syntézy buněčné stěny

- Přirozené peniciliny



Penicilin G

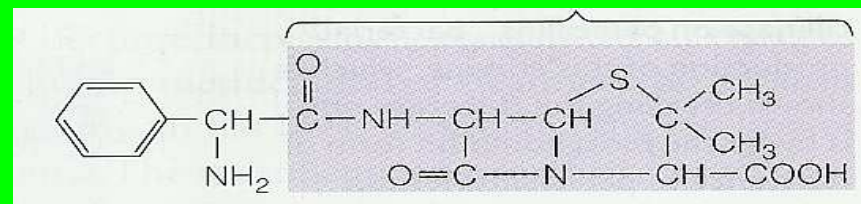
thiazolidinový kruh



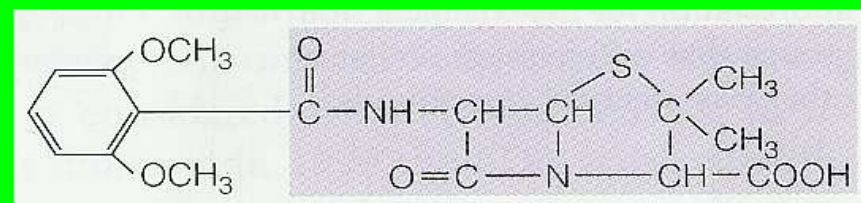
Penicilin V

$\beta$ -laktamový kruh

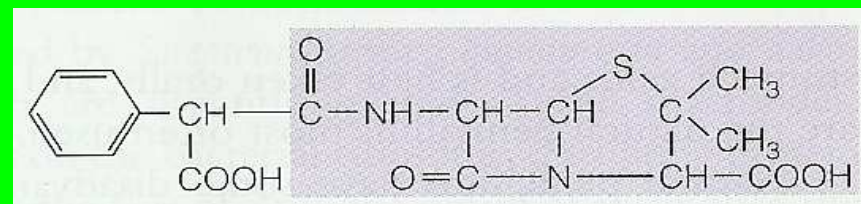
- Semisyntetické peniciliny



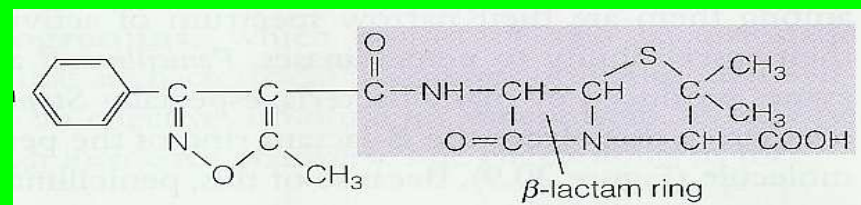
Ampicilin



Methicilin

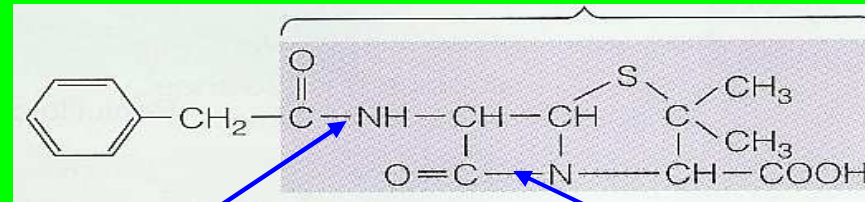


Cambericilin



Oxacilin

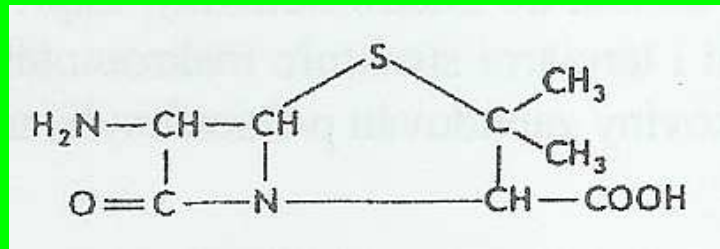
# Antibiotika - Inhibice syntézy buněčné stěny



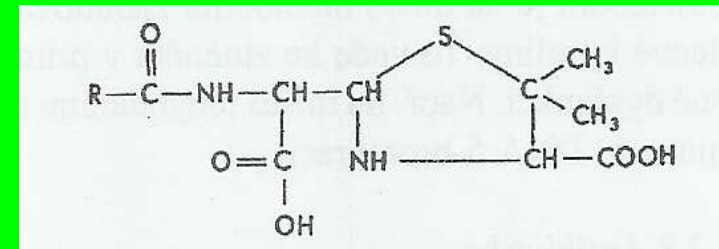
penicilin

amidáza

penicilináza

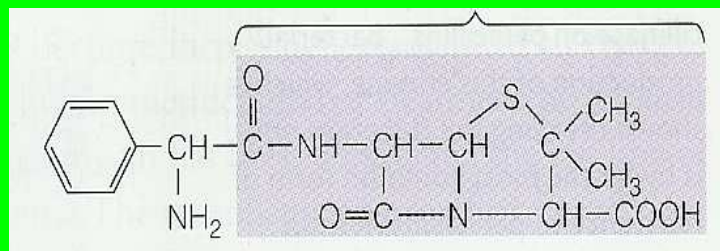


6-aminopenicilánová kys



penicilinová kys.

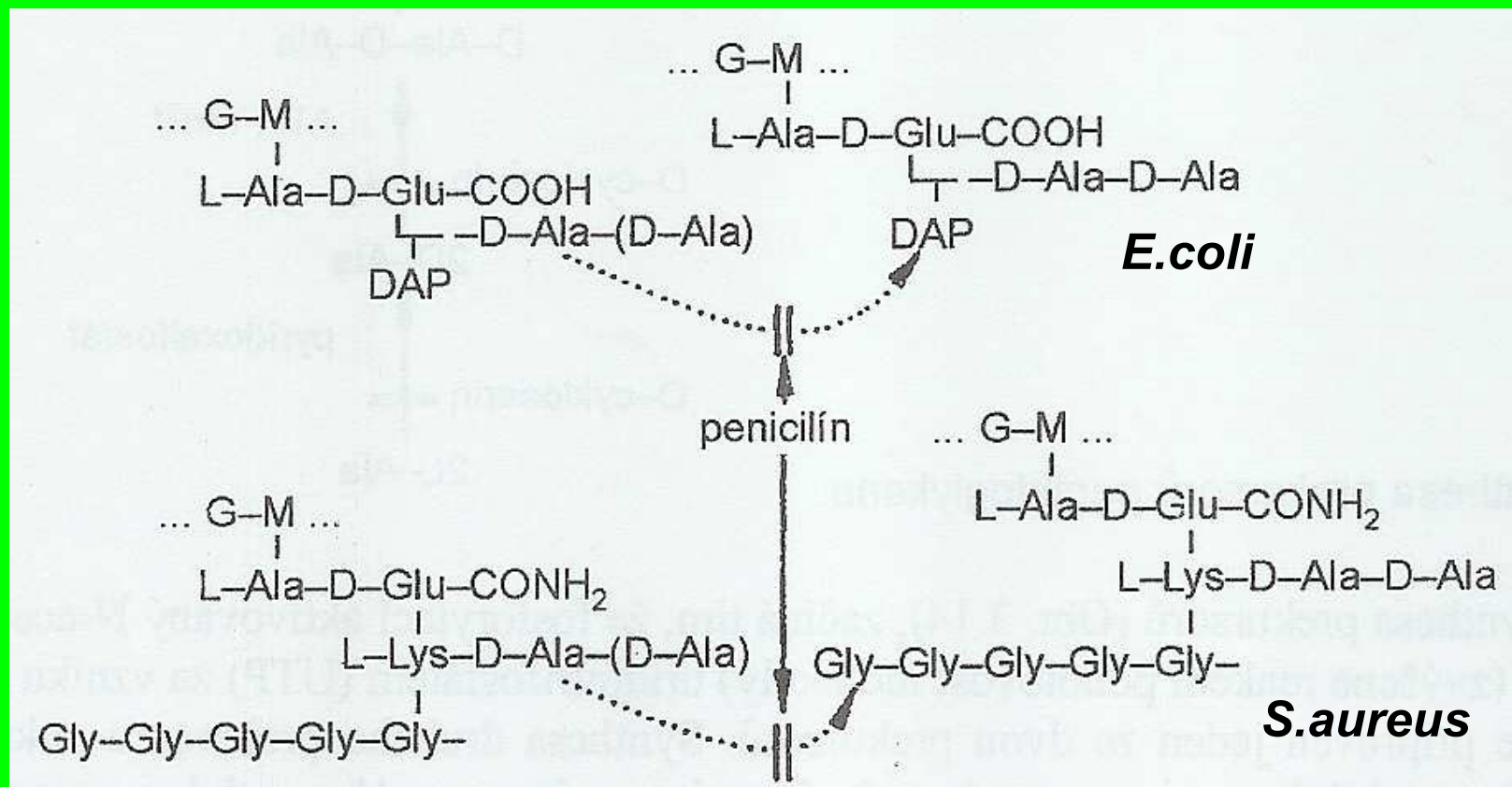
**Inaktivní**



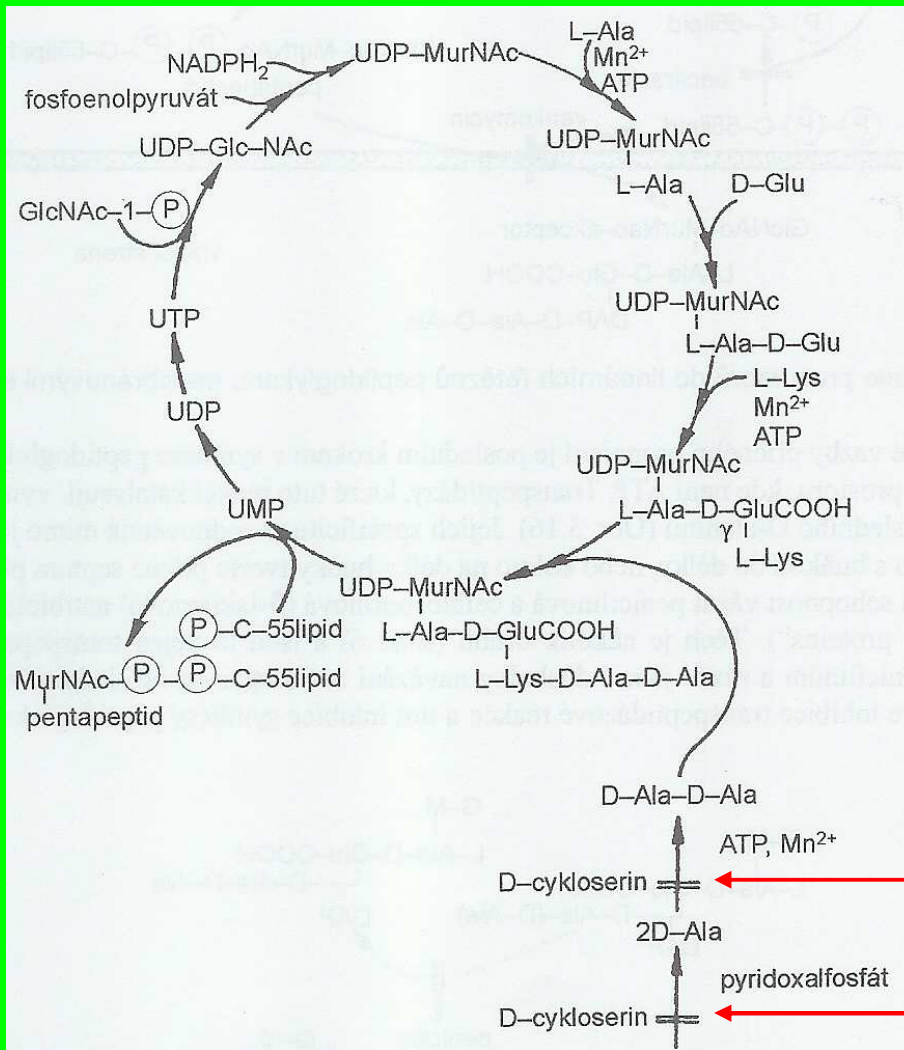
Ampicilin

# Antibiotika - Inhibice syntézy buněčné stěny

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

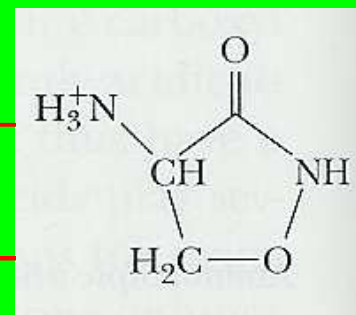


# Antibiotika - Inhibice syntézy buněčné stěny



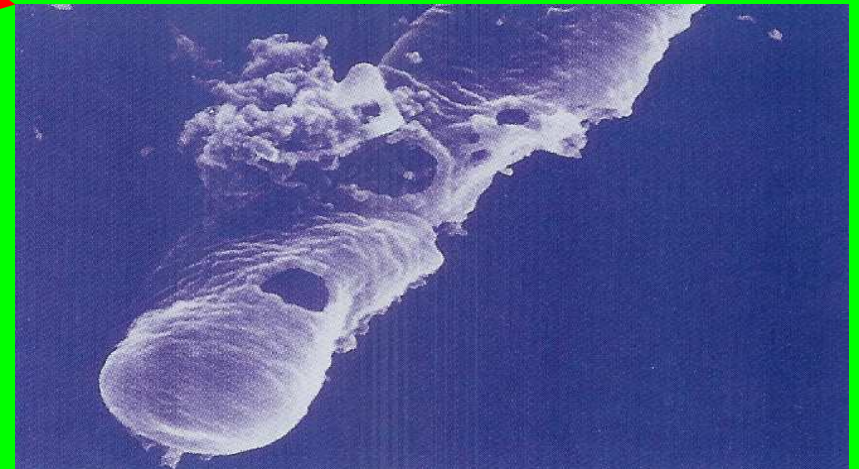
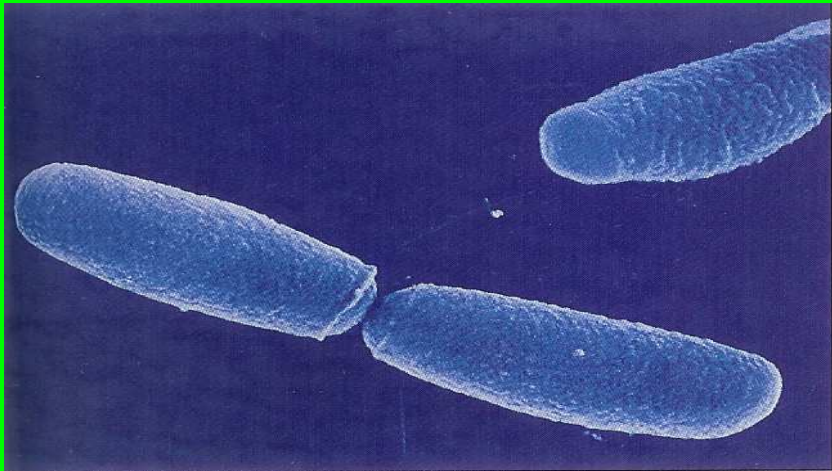
**2L-Ala**

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



# Antibiotika - Inhibice syntézy buněčné stěny

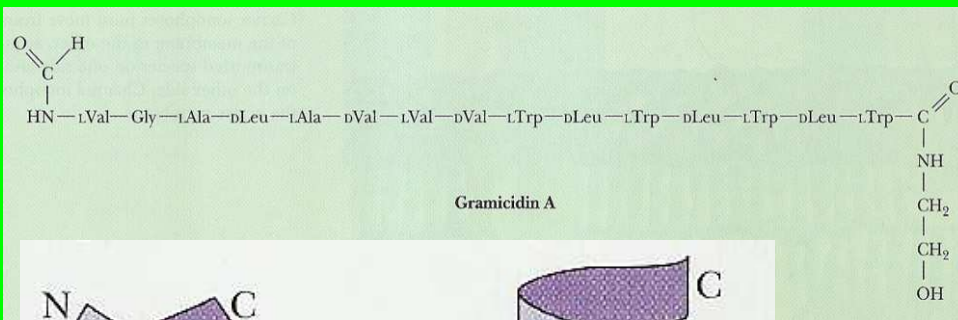
- Výsledek působení



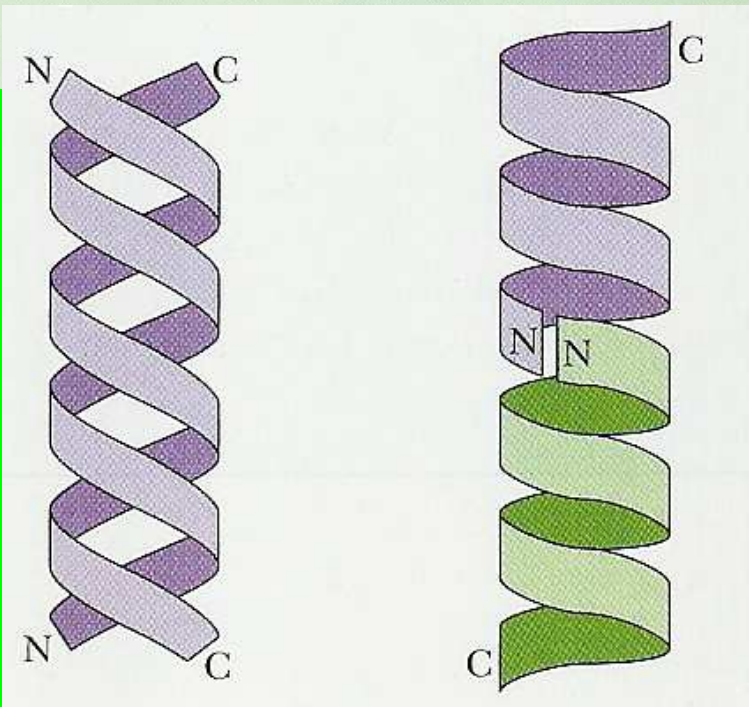


# Antibiotika - Inhibice funkce cytoplazmatické membrány

A – antibiotika tvořící v membráně póry – Gramicidin A



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



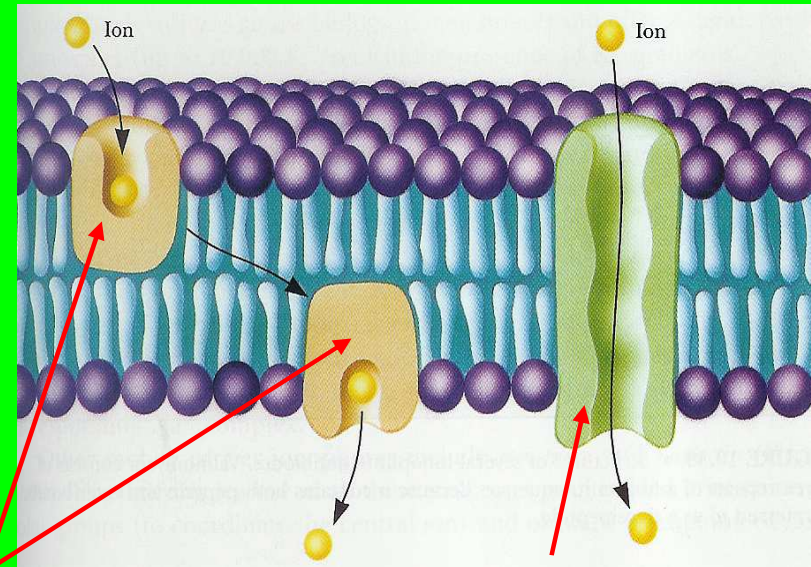
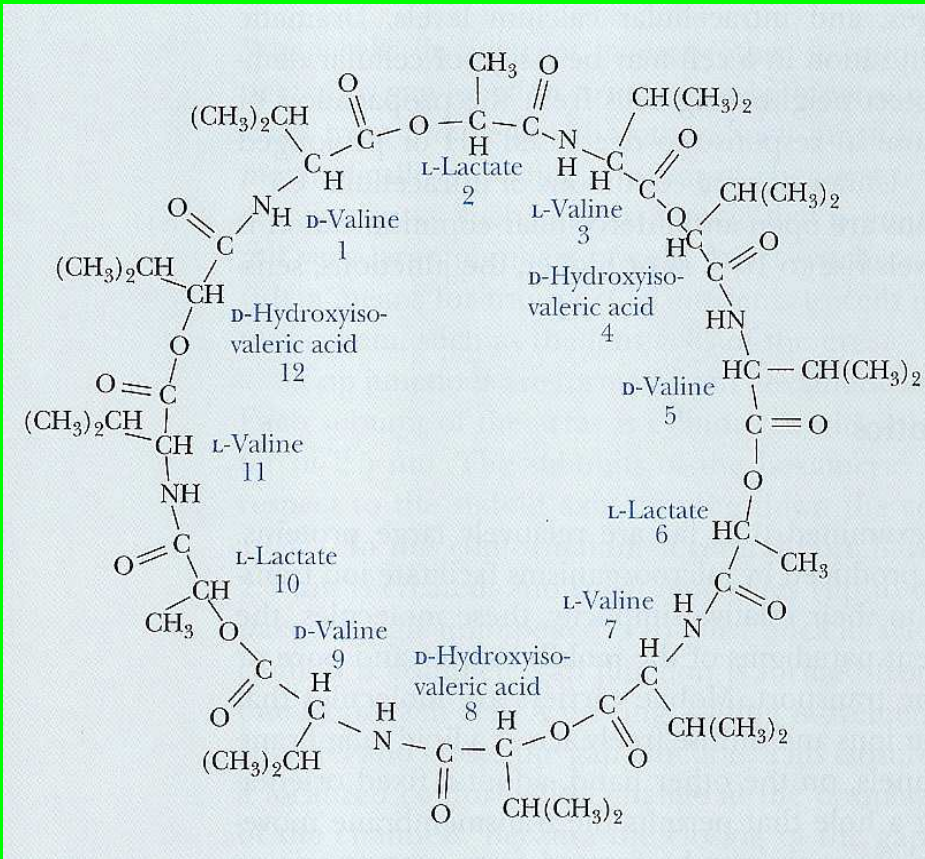
V lipidické vrstvě

V anorganickém roztoku

# Antibiotika - Inhibice funkce cytoplazmatické membrány

B – ionofory – Valinomycin

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

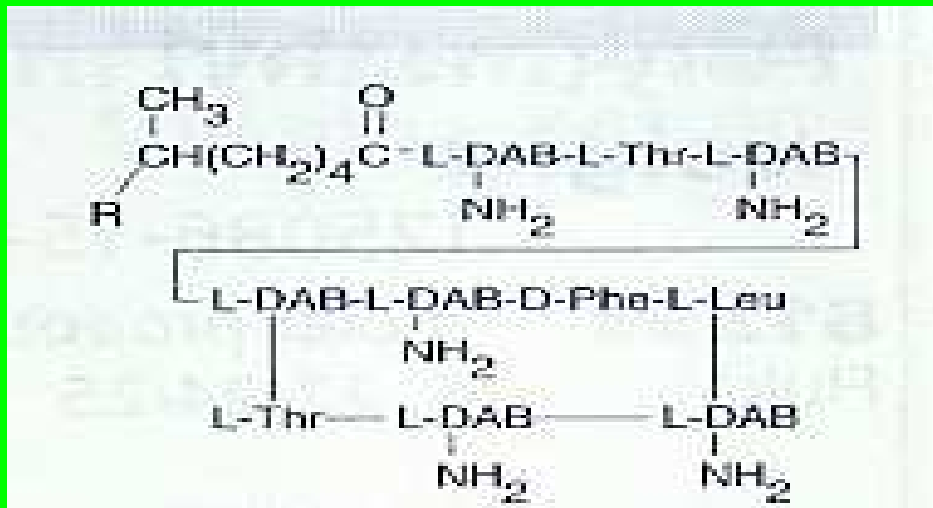


Přenašeč

Vytvořený kanál

# Antibiotika - Inhibice funkce cytoplazmatické membrány

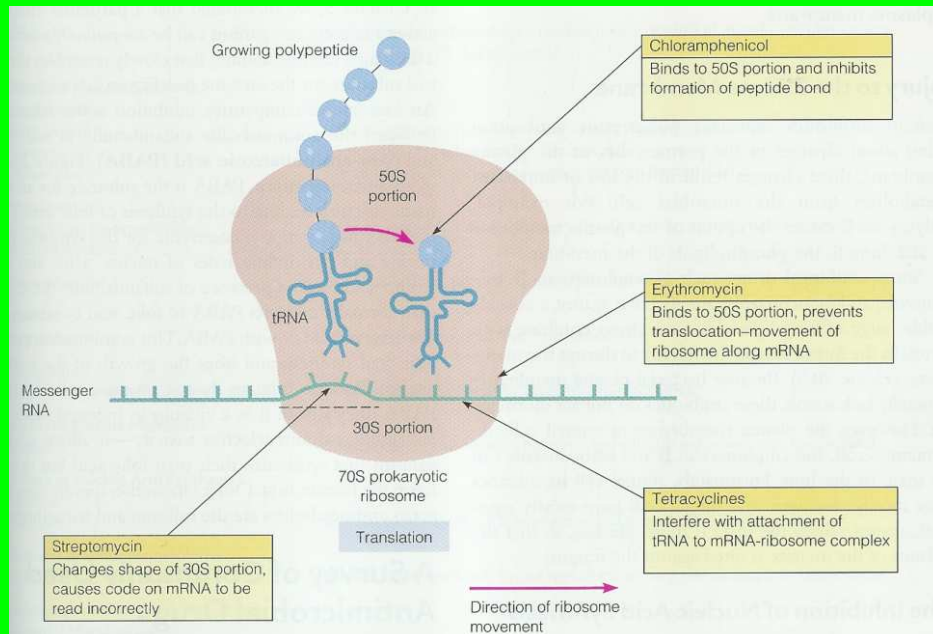
C – vyvolávající desorganizaci CM – Polymyxin B



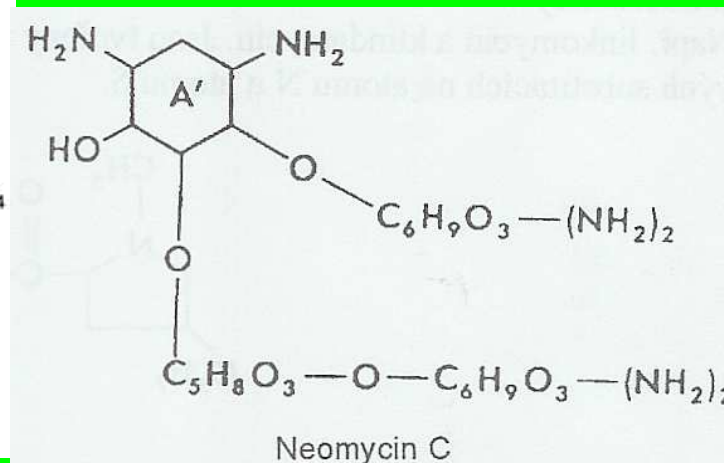
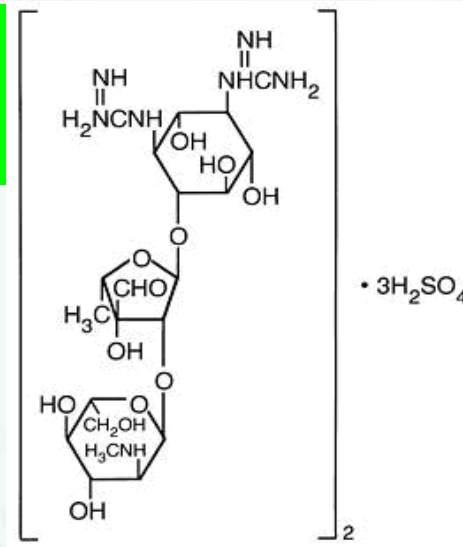
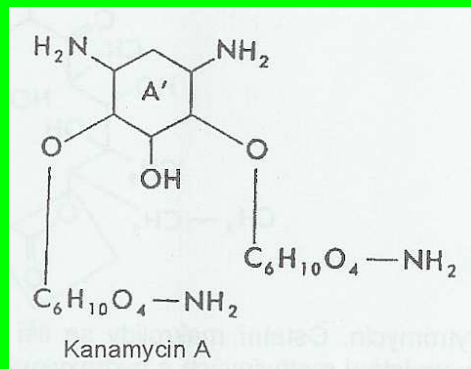
Pentapeptidový kruh s dlouhým postranním řetězcem (DAB – diaminomáselná kys. R – 6-metyloktanová kys.)

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

# Antibiotika - Inhibice syntézy bílkovin

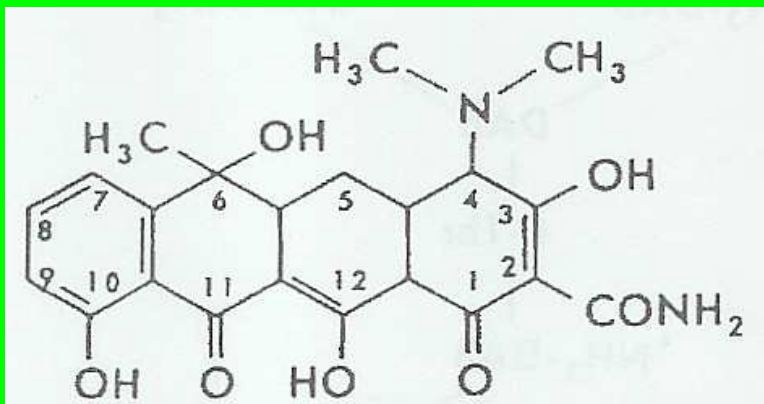


- **Aminoglykozidy** – streptomycin, kanamycin, neomycin, gentamycin – irreverzibilní vazba na S12 protein malé podjednotky → její distorze



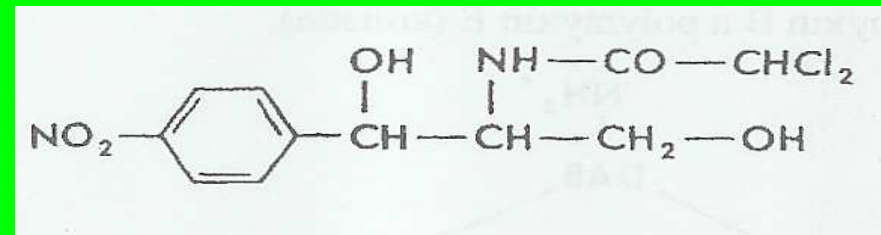
# Antibiotika - Inhibice syntézy bílkovin

- **Tetracykliny** – vazba na malou podjednotku – blokují místo A → zabránění vazbě aminoacyl-tRNA (reverzibilní vazba)



7-chlortetracyklin (aureomycin)  
5-hydroxytetracyklin (oxytetracyklin)

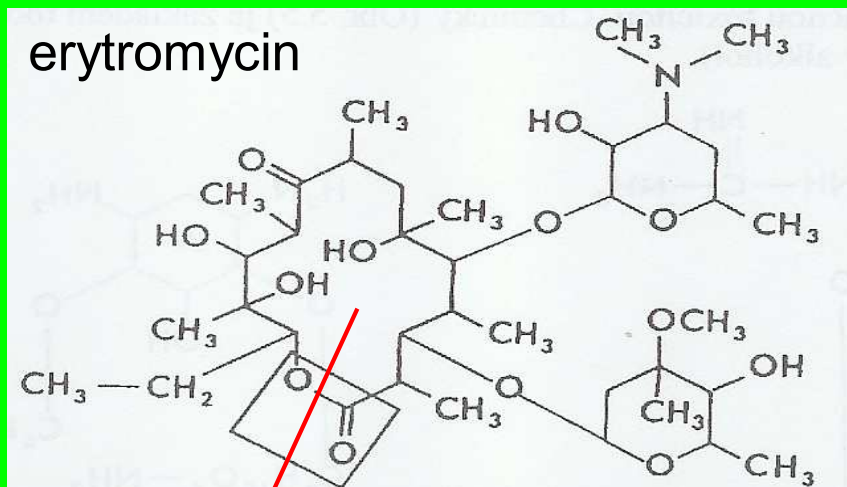
- **Chloramfenikol** – vazba na velkou podjednotku → inhibice peptidyltransferázy (přenos nascentního peptidu z místa P na novou aminoacyl-tRNA na místě A) – účinek je reverzibilní



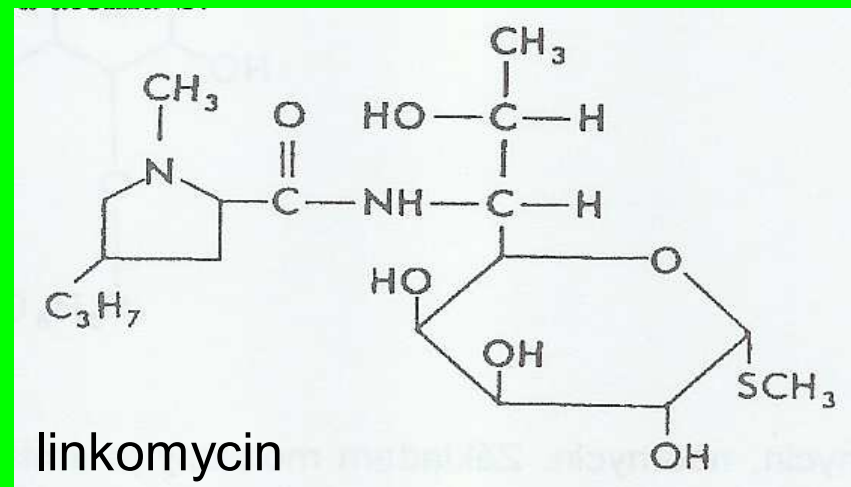
Vyrábí se i synteticky

# 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

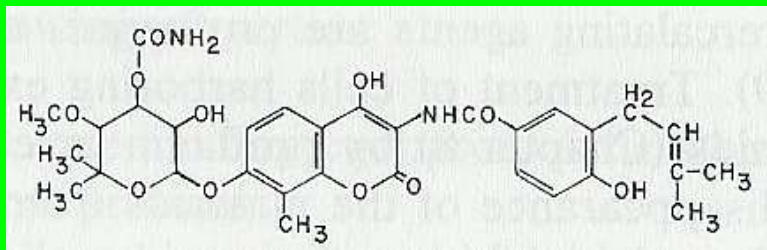


linkomycin

Oba typy antibiotik mohou interferovat

# Antibiotika - Inhibice syntézy a funkce nukleových kyselin

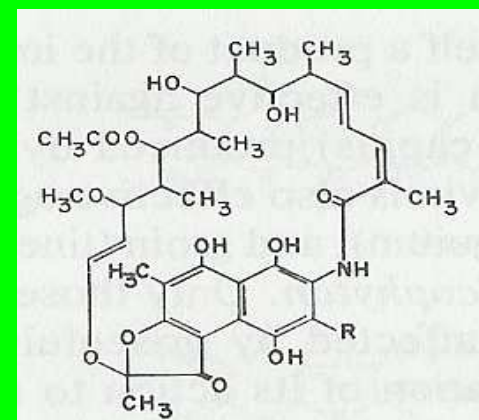
- **Inhibitory gyrázy** – zablokování syntézy DNA - novobiocin → vazba na β-podjednotku DNA gyrázy



novobiocin

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

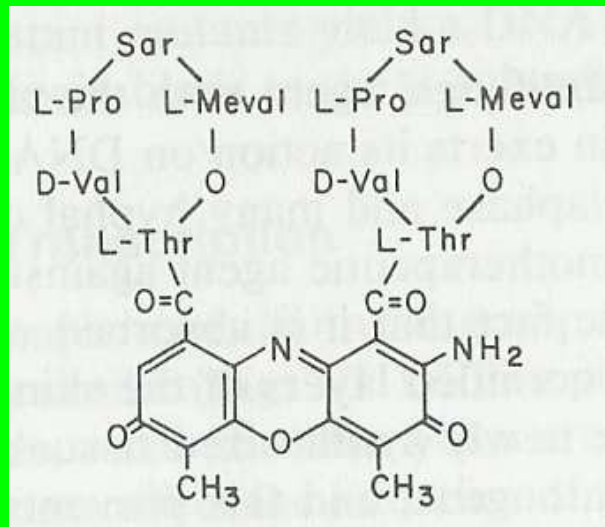
**Streptolydigin** - zablokování elongace tvazbou na β-podjednotku RNA polymerázy



rifampicin

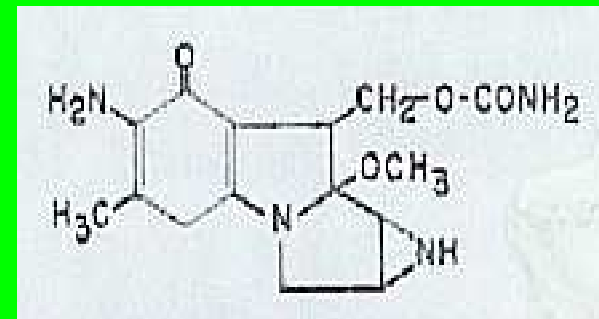
# Antibiotika - Inhibice syntézy a funkce nukleových kyselin

- **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