

1.

ÚVOD DO MIKROBIOLÓGIE

1. 1. Pojem a náplň mikrobiológie

Mikrobiológia (z gréckeho *mikros* - malý, *bios* - život, *logos* - veda) je veda, ktorá študuje malé, voľným okom neviditeľné organizmy, t. j. mikroorganizmy. Študuje ich život, morfológiu, fyziologické vlastnosti, funkcie a činnosť vo vzťahu k iným mikroorganizmom, rastlinám, živočíchom a človeku. Mikroorganizmy sú najmenší a najjednoduchší nositelia života na Zemi.

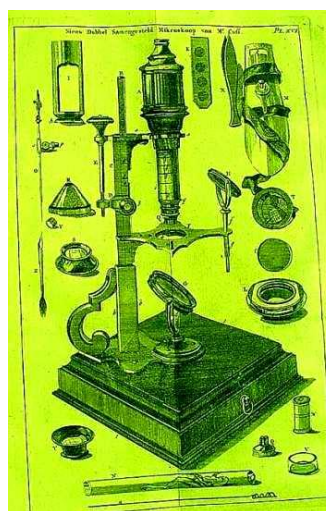
Mikrobiológia je pomerne mladá vedná disciplína, ktorá sa ako odbor začala formovať koncom 17. stor. objavením mikroorganizmov. Mnohé procesy spôsobené, resp. vyvolané činnosťou mikroorganizmov však ľudia poznali a využívali už v staroveku, napr. pri výrobe chleba, piva, vína, medoviny, syra, tvarohu a iných mliečnych produktov, ale aj spracovaní kože a konzervovaní mäsa ulovených zvierat a pod. O existencii mikroorganizmov vôbec nevedeli, pretože ich nemohli vidieť.

V rámci rozvoja mikrobiológie poznáme dve obdobia:

Morfologické obdobie, ktoré je charakteristické len popisovaním a skúmaním rôzneho vonkajšieho tvaru mikroorganizmov. Za objaviteľa, či "otca" mikroorganizmov sa všeobecne považuje Holanďan **A. van Leeuwenhoek** (Obr. 1).



Obr. 1. A. van Leeuwenhoek
(<http://www.wikipedia.org>)



Obr. 2. Šošovka A. van Leeuwenhoeka
(<http://www.wikipedia.org>)

Pomocou vlastnej zostrojenej šošovky (Obr. 2) v dažďovej a studničnej vode, v zubnom povlaku a pod. pozoroval jednobunkové organizmy, ktoré nazval animalcules, a ktoré dnes nazývame mikroorganizmami. Poprvýkrát v r. 1674 pozoroval a následne opísal prvky a v r. 1676 baktérie pri zväčšení 100 x. Ako prvý opísal mikroskopické vlákna svalu a objavil tiež, že ľudská krv preteká tenkými cievami - kapilármi. Opísal tiež krvné bunky. A. van Leeuwenhoek vybrúsil vyše 500 optických šošoviek a vyrobil viac ako 400 rôznych typov mikroskopov, z ktorých sa dodnes zachovalo 9. Rámy jeho mikroskopov boli vyhotovené zo strieborného alebo medeného kovu a šošovky boli ručne brúsené. Všetky jeho zachované mikroskopy sú schopné až 270-násobného zväčšenia. Predpokladá sa však, že vyrobil aj mikroskopy, ktoré museli zväčšovať objekt viac ako 500-krát.

S rozvojom a zdokonalením pozorovacej optiky veľmi úzko súvisí aj rozvoj mikrobiológie. Pozorovacia technika na lepšej, vyššej úrovni, t. j. skonštruovanie mikroskopu s väčšou rozlišovacou schopnosťou, znamenala výrazný pokrok v mikrobiológii. Stále viac sa tiež začínala uplatňovať experimentálna metóda skúmania mikroorganizmov.

Fyziologické obdobie je charakteristické tým, že mikrobiológia sa dostáva na cestu praktického využitia človekom. Priekopníkom tohto obdobia sa stal **Louis Pasteur**, ktorý svojim výskumom dokázal, že mikroorganizmy sa medzi sebou nelíšia len tvarom, ale aj určitými fyziologickými zvláštnosťami, t. j. schopnosťou premieňať rôznym spôsobom látky rôzneho charakteru, resp. pôvodu.

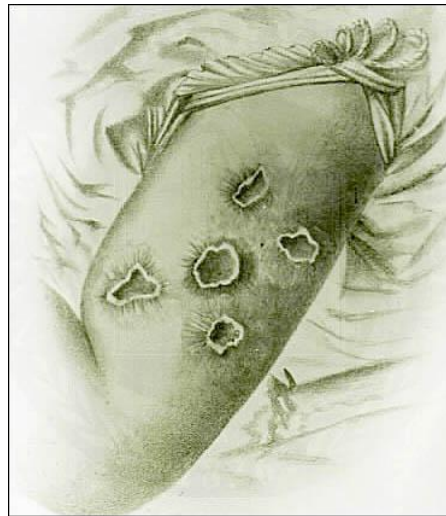
1. 2. Historické medzníky a objavy v mikrobiológii

Pre morfológické obdobie je významný prvý pokus, ktorý urobil dánsky prírodovedec **O. F. Müller**, keď v r. 1786 zobrazil a opísal základné tvary baktérií (koky, bacily, spirily, vibria), ktoré sú platné a používané dodnes. **Ch. G. Ehrenberg** v r. 1838 vydal knihu o nálevníkoch, ktorú doplnil o atlas mikroorganizmov. V knihe už použil názvy ako bacterium, spirillum, spirochaeta. Tento autor ako prvý popísal tzv. senný bacil *Bacillus subtilis*, sírnu baktériu *Spirillum volutans* a niektoré železité baktérie. **K. Naegeli** vytvoril pre baktérie samostatnú skupinu s označením Schizomycetes, ktoré je stále v platnosti. **F. Cohn** vytvoril jednoduchú klasifikáciu baktérií, ktorá sa stala základom viacerých dnes používaných systémov.

Fyziologické obdobie bolo veľmi dynamické a bohaté na objavy. **Edward Jenner** (Obr. 3) zaviedol názov vírus ako pomenovanie pre mikroorganizmy, ktoré sú menšie ako baktérie a v r. 1796 urobil prvé pokusy s očkovaním proti kiahňam (Obr. 4). Historicky je však dokázané, že už 75 rokov pred Jennerom, t. j. v r. 1721 očkoval proti kiahňam **J. A. Raymann**. Bol to infektológ, imunológ, farmaceut a mestský lekár mesta Prešov a župný lekár Šarišskej župy.



Obr. 3. Edward Jenner



Obr. 4. Prvé pokusy s očkovaním proti kiahňam

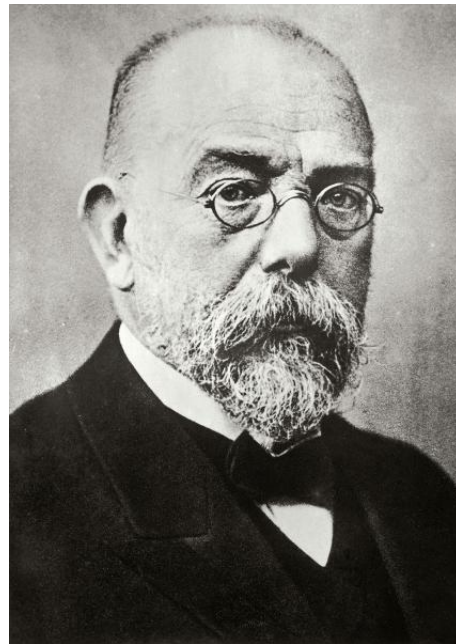
Významným priekopníkom tohto obdobia je však francúzsky chemik a mikrobiológ **Luis Pasteur** (1822 - 1895), ktorý sa pokladá za zakladateľa mikrobiológie ako vednej disciplíny. Jeho výskum znamenal prudký rozvoj vinárstva a pivovarníctva. Ako chemik a technológ má veľké zásluhy v oblasti kvasnej mikrobiológie a je zakladateľom technickej mikrobiológie. Zistil a dokázal, že pôvodcami etanolového kvasenia sú kvasinky a pôvodcami mliečného a maslového kvasenia sú baktérie. Pasteur (Obr. 5) vypracoval mikrobiologickú laboratórnu techniku, zaviedol tekuté živné pôdy. Je autorom sterilizácie filtráciou a teplom, tzv. pasterizácie, čo je zahrievanie na teplotu 70 - 90 °C, kedy hynú nesporejúce patogénne mikroorganizmy. Pasterizácia niektorých potravín (mlieko, pivo, džúsy a pod.) sa dnes bežne používa. Opísal tiež bakteriálne spóry, objavil pôvodcu besnoty a zaviedol proti tomuto ochoreniu očkovanie. Objavom aktívnej imunizácie sa stal tiež zakladateľom imunológie.

Výskumy **Roberta Kocha** (1843 - 1910) znamenali prudký rozvoj lekárskej mikrobiológie. Je tvorcom bakteriologickej laboratórnej techniky, najmä metodických

postupov pri kultivácii, izolácii a identifikácii baktérii. Zaviedol želatínu ako tuhé živné médium a vypracoval viacero pracovných postupov farbenia mikroorganizmov anilínovými farbivami. Robert Koch (Obr. 6) v r. 1877 objavil pôvodcu sneti slezinnej (antraxu) *Bacillus anthracis*, ktorý postihoval najmä hovädzí dobytok a ovce. Je tiež objaviteľom pôvodcu tuberkulózy - *Mycobacterium tuberculosis* (tzv. Kochov bacil) v r. 1882 a v r. 1883 objavil a opísal pôvodcu cholery (*Vibrio cholerae*). Proti šíreniu chorôb a ako spôsob boja proti ochoreniu ako prvý zaviedol dezinfekciu. Svojimi objavmi významne prispel k rozvoju sérológie, imunológie a mikrobiologickej diagnostiky.



Obr. 5. Luis Pasteur
(<http://www.wikipedia.org>)

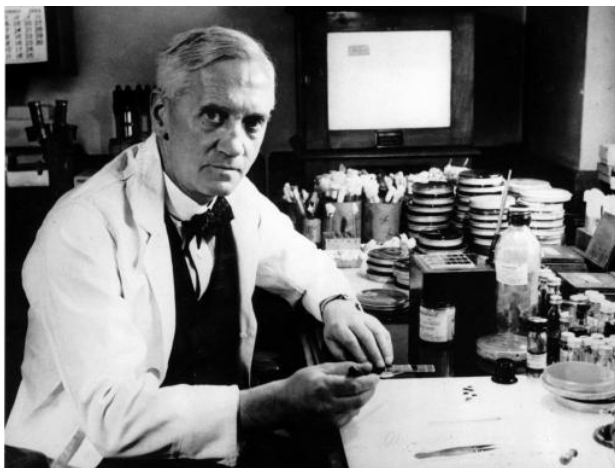


Obr. 6. Robert Koch
(<http://www.wikipedia.org>)

Lekár a pôrodník **I. F. Semmelweis** (1818 - 1865) skúmal príčinu horúčky u mladých rodičiek (tzv. horúčka omladníc) a vyslovil teóriu, že toto ochorenie prenášajú pri vyšetreniach a pôrodoch samotní lekári svojimi rukami, napr. pod nechtami. Ustanovil povinné umývanie rúk vodou s obsahom chlóru, ktorá bola v tom čase protihnilobným a protizápachovým prostriedkom. Ochorenie výrazne potlačil, preto je nazývaný ako záchranca matiek. Až L. Pasteur o 20 rokov neskoršie dokázal, že horúčku omladníc vyvolávajú baktérie, a to rôzne streptokoky. Sterilizáciu chirurgických nástrojov následne zavádza **J. Lister** (1827 - 1912).

Francúzsky lekár **Ch. L. A. Laveran** v r. 1880 objavil pôvodcu malárie a za tento objav získal v r. 1907 Nobelovu cenu. **A. Ogston** v r. 1881 objavil a opísal stafylokoky. **F.**

Fehlesein v r. 1883 objavil a popísal streptokoky. **E. T. Klebs** a **F. Löffler** v r. 1883 objavili pôvodcu záškrtu. **Eberth** a **Gaffy** objavili v r. 1884 pôvodcu brušného týfu (Eberthov bacil). **I. I. Mečnikov** je objaviteľom fagocytózy a autorom fagocytárnej teórie imunity, čiže boja organizmu proti choroboplodným baktériám, pričom fagocyt je bunka schopná požírať a tráviť iné bunky a baktérie. Mečnikov je tiež iniciátorom biologickej metódy boja proti poľnohospodárskym škodcom. **Ch. Z. Gram** v r. 1884 popísal základný postup farbenia baktérií, tzv. Gramovo farbenie, na základe ktorého rozoznávame grampozitívne baktérie G^+ (bunková stena je schopná prijať a po odfarbení premytím si udržať farbivo) a gramnegatívne baktérie G^- (bunková stena farbivo prijíma, ale pri odfarbení ho uvoľňuje). **A. Nicolaier** v r. 1885 objavil pôvodcu tetanu (*Clostridium tetani*). **K. Escherich** v r. 1886 objavil *Escherichiu coli*. **A. Weichselbaum** v r. 1887 objavil pôvodcu zápalu mozgových blán (*Neisseria meningitidis*). **S. Kitasato** a **A. Yersin** v r. 1894 objavili nezávisle na sebe pôvodcu moru (*Yersinia pestis*). Rodový názov nesie tento mikroorganizmus po A. Yersinovi, ale prvenstvo objavu priznali S. Kitasatoovi. **K. Shiga** v r. 1898 objavil pôvodcu dyzentérie (*Shigella shiga*). Nemecký lekár a bakteriológ **E. A. von Behring** v r. 1901 zaviedol preventívne očkovanie proti tetanu a záškrtu. **F. Shaudin** v r. 1905 objavil pôvodcu syfilisu (*Treponema pallidum*). **S. Prowazek** a **R. da Lima** objavili v r. 1913 pôvodcu škvrnivky (*Rickettsia prowazeki*).



Obr. 7. Alexander Fleming
(<http://www.wikipedia.org>)



Obr. 8. Mikroskopická huba *Penicillium* sp. profesora Fleminga (<http://www.wikipedia.org>)

Začiatkom 20. stor. (v r. 1915) **P. Ehrlich** a **S. Hata** položili základy chemoterapie objavením salvarzánu, za čo Ehrlich získal v r. 1908 Nobelovu cenu. Je tiež autorom termínov ako imunita, protilátka a antigén. V r. 1921 sa poprvýkrát začalo s očkovaním proti TBC.

Alexander Fleming (Obr. 7) v r. 1928 objavil penicilín a za tento objav v r. 1945 dostal Nobelovu cenu. Pôvodne A. Fleming v laboratóriu kultivoval baktérie z hnisu. Vzdušná kontaminácia mikroskopickou hubou na Petriho miske však spôsobila nárast mycélia a vtedy si Fleming všimol výrazné potlačenie až zastavenie rastu baktérií. Zistil, že túto inhibíciu rastu stafylokokov nespôsobuje samotná huba, ale jej účinná látka, ktorú vylučuje. Keďže kontamináciu spôsobil druh *Penicillium notatum*, vyprodukovanú látku nazval - penicilín (Obr. 8). Mikroskopické huby *Penicillium notatum* (druh dnes uvádzaný ako synonymum k druhu *P. chrysogenum*) a *P. chrysogenum* sa dlho používali ako producentské kmene pri výrobe penicilínu. Toto antibiotikum patrí k najznámejším na svete a na jeho báze vzniklo mnoho ďalších antibiotík. Čistý penicilín, ktorý sa začal používať liečebne u ľudí, pripravili **H. W. Florey** a **E. B. Chain** až v r. 1941. V r. 1931 v Nemecku **E. Brúche, M., Knoll** a **E. Ruska** skonštruovali elektrónový mikroskop, ktorý umožnil hlbšie štúdium a opísanie jednotlivých bunkových organel.

1. 3. Rozdelenie mikrobiológie

Náplňou mikrobiológie je štúdium morfológie, systematiky (taxonómie), fyziológie a všeobecných podmienok ich životnej činnosti, ale tiež štúdium úlohy, ktorú majú mikroorganizmy pri premene najrozličnejších látok v prírode.

Medzi mikroorganizmami pôvodom zo živočíšnej a rastlinnej ríše nie sú ostré hranice. Niektoré mikroorganizmy sa vnútornou stavbou a spôsobom výživy podobajú živočíchom (napr. prvoky) alebo rastlinám (napr. zelené riasy). Súčasne však majú také špecifiká, ktoré ich zaraďujú do samostatnej ríše - Protista. Tam zaraďujeme baktérie, sinice a riasy, prvoky a vírusy. Mikrobiológia ako vedná disciplína je súčasťou biológie a delí sa na mikrobiológiu všeobecnú a špeciálnu.

Všeobecná mikrobiológia využíva zovšeobecnené poznatky vedných disciplín ako sú morfológia a cytológia (študuje tvar buniek a ich ultraštruktúru), fyziológia a biochémia (študuje životné procesy a ich chemickú podstatu), genetika (študuje dedičnosť a premenlivosť znakov a vlastností mikroorganizmov), ekológia (študuje funkciu mikroorganizmov v ekologických systémoch, vzájomné vzťahy medzi mikroorganizmami a rastlinami, resp. živočíchmi a tiež človekom a vzťah medzi mikroorganizmami a životným prostredím), taxonómia (zaoberá sa systematickým zaradením jednotlivých

mikroorganizmov). Všeobecná mikrobiológia ako teoretická veda poskytuje základné poznatky pre špeciálnu, t. j. aplikovanú mikrobiológiu.

Špeciálna (aplikovaná) mikrobiológia využíva všetky poznatky všeobecnej mikrobiológie a premieta ich do praktických oblastí ľudskej činnosti. Súčasťou špeciálnej mikrobiológie je aj:

- Technická mikrobiológia, do ktorej zaraďujeme priemyselné fermentácie. Tento vedný odbor využíva vlastnosti mikroorganizmov, predovšetkým baktérií, aktinomycét a vláknitých mikroskopických húb na prípravu a spracovanie organických a anorganických substancií z hľadiska výrobných praxí. Mikrobiologické výroby, priemyselné fermentácie zahŕňajú napr. výrobu acetónu, rozpúšťadiel, antibiotík, enzýmov, organických kyselín, aminokyselín, výrobu bielkovín pre výživu ľudí i zvierat. Prepojením technickej mikrobiológie, biochémie a genetiky baktérií vznikol nový smer rozvoja mikrobiológie a jej využitia v praxi, ktorým sú biotechnológie. Do technickej mikrobiológie zaraďujeme i potravinársku mikrobiológiu, ktorá je spojená s výrobou piva, vína, etanolu, s konzervovaním potravín, s výrobou syra a iných mliečnych výrobkov. Patrí sem tiež ochrana výrobkov pred škodlivými, resp. choroboplodnými mikroorganizmami, a tiež kontrola potravín, najmä dovozových, napr. rôzne cudzokrajné koreniny - klinčeky, škoric, vanilka, čierne korenie, muškátový orech, muškátový kvet, tiež búrske oriešky (arašidy), kešu, paraorechy, kávové a kakaové boby a pod. Zo zdravotného hľadiska je veľmi dôležité sledovať skupinu termorezistentných mikroorganizmov a producentov toxínov. Potravinárska mikrobiológia veľmi úzko súvisí s technickou, mliekarskou a konzervárenskou mikrobiológiou, ako aj s hygienou potravín a prediktívnou mikrobiológiou.

- Lekárska mikrobiológia študuje mikroorganizmy patogénne pre človeka, ich vzájomný vzťah, spracovanie a vyhodnotenie infekčného materiálu. Príbuznými odbormi sú lekárska virológia, imunológia, sérológia, epidemiológia a hygiena. Imunológia skúma imunitný systém, ktorý zabezpečuje obranné schopnosti organizmu, ale aj účasť na patogenéze ochorení. Sérológia je náuka o sérových protilátkach, ich dôkaz a použití. Infekčná epidemiológia študuje charakter, vznik, šírenie, ale aj prevenciu a boj proti infekčným ochoreniam. Hygiena (verejné zdravotníctvo) sa venuje vzťahu medzi človekom a neustále sa meniacimi podmienkami životného prostredia.

- Veterinárna mikrobiológia je problematikou a zameraním blízka lekárskej mikrobiológii. Študuje však mikroorganizmy vo vzťahu k zvieratám, k technológii ich chovu a chovateľskému prostrediu. Súčasťou veterinárnej mikrobiológie je tiež náuka o nakažlivých chorobách zvierat, o ich šírení, potláčaní a prevencii, tzv. epizootológia.

- Pôdna mikrobiológia sa venuje mineralizačným procesom, ktoré sú veľmi úzko spojené s kolobehom prvkov a látok v prostredí. Sleduje abundanciu (početnosť) mikroorganizmov, ich fyziologické prejavy, rodovú a druhovú skladbu vo vzťahu k vlastnostiam pôd a jednotlivým pôdnym typom. Veľmi dôležitý je tiež význam pôdných mikroorganizmov v ťažkými kovmi znečistených, resp. iným spôsobom znehodnotených a kontaminovaných pôdach.

- Poľnohospodárska mikrobiológia zahŕňa mikrobiológiu poľnohospodárskej pôdy, vody, krmív, hnojív (najmä maštalných), produktov živočíšnej prvovýroby a gastrointestinálneho traktu zvierat. Dôraz sa kladie na sledovanie faktorov ovplyvňujúcich mineralizačné a imobilizačné procesy v pôde. Ide o účinok agrotechnických opatrení, vplyv organických a minerálnych hnojív, melioračných zásahov a pod. Nevhodné obhospodarovanie má za následok pokles úrodnosti a pôdnu únavu. Poľnohospodárska mikrobiológia úzko súvisí aj s mikrobiológiou veterinárnou, technickou, potravinárskou, s hygienou a inými vednými odbormi.

- Lesnícka mikrobiológia je mikrobiológia lesných pôd a lesného stanovišťa. Je to aplikácia pôdnej mikrobiológie a tiež iných vedných odborov vo vzťahu k lesnému hospodárstvu a ochrane pestovaných drevín pred patogénnymi mikroorganizmami a inými škodcami.

- Mikrobiológia vody, ovzdušia, odpadov a i. ako zložiek environmentálnej mikrobiológie (mikrobiológia životného prostredia). Veľmi dôležité je pravidelné sledovanie mikrobiológie vody a to najmä z hľadiska indikátorov hygienického významu. Sleduje sa kvalita pitnej vody, voda na kúpanie a to tak umelé ako aj prírodné kúpaliská. Mikrobiológia ovzdušia sa zaoberá štúdiom bioaerosolov, teda žijúcich častíc mikroorganizmov v ovzduší alebo pochádzajúcich zo živých organizmov samostatne alebo na vhodnom nosiči.

1. 4. Chemické zloženie mikroorganizmov

1. 4. 1. Prvkové zloženie mikroorganizmov

Každá živá hmota od jednoduchých foriem po zložité sa skladá z rovnakých chemických prvkov. Na chemickej stavbe buniek a bunkových organel sa podieľa približne 20 prvkov, ktoré podľa zastúpenia možno rozdeliť na:

Primárne (makroelementy): C, N, P, S, O, H - tvoria 99 % živej hmoty. Vyskytujú sa najčastejšie a patria medzi univerzálne zložky stavebných jednotiek všetkých buniek. Sú to tzv. biogénne prvky.

Sekundárne (mikroelementy): K, Mg, Cl, Fe, Ca, Na, Cu, Mn, Zn - sú prvky potrebné k realizácii fyzikálnych procesov v bunke, ako je napr. permeabilita a viskozita. Ich podiel na tvorbe živej hmoty je menší ako 1 %. Obidve skupiny prvkov sa nachádzajú vo všetkých živých bunkách.

Stopové (ultramikroelementy): Mo, B, Br, Co, Ti, Va, Ag, Au a ďalšie. Sú to prvky potrebné pri enzymatických reakciách, kde pôsobia ako kofaktory. Nevyskytujú sa pravidelne vo všetkých bunkách, t. j. ich zastúpenie je variabilné a ich podiel na živej hmote je menší ako 0,001 %.

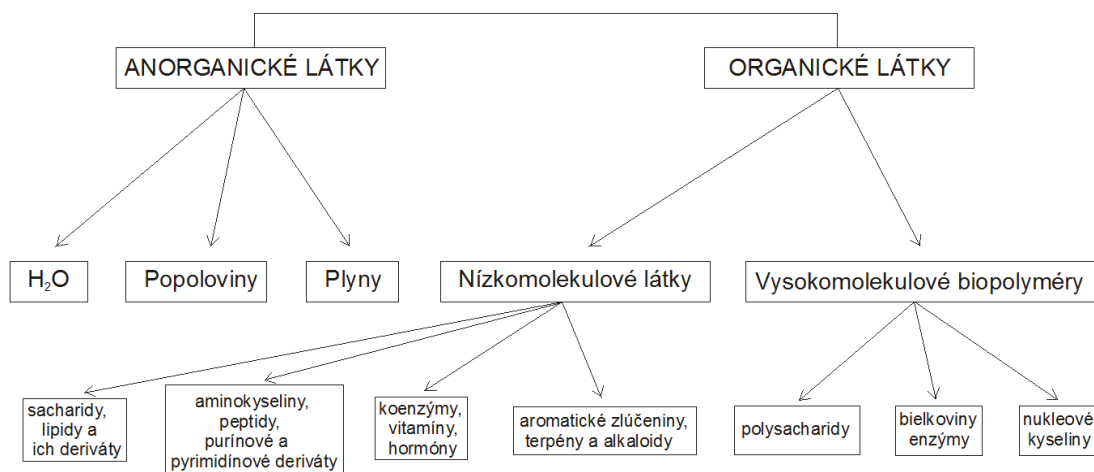
1. 4. 2. Látkové zloženie mikroorganizmov

Na látkovom zložení mikroorganizmov sa podieľajú tak anorganické, ako aj organické zlúčeniny (Obr. 9).

Anorganické látky

Voda je základným prostredím pre väčšinu mikroorganizmov. Na stavbe mikrobiálneho tela sa podieľa od 75 do 90 %, t. j. tvorí hlavný podiel biomasy žijúcich buniek. Prvky a riasy obsahujú až 90 % vody, mikroskopické huby 84 - 88 %, baktérie 80 %, kvasinky od 68 do 76 %. Rôzne a spóry obsahujú vody najmenej, a to od 40 do 60 %. V mikroorganizmoch sa nachádza voda voľná aj viazaná. Vo voľnej vode sú rozpustené koloidné a kryštalické substancie a z mikroorganizmu ju môžeme odstrániť bez poškodenia buniek. Voda viazaná predstavuje len 3 - 6 % z celového obsahu a bez poškodenia buniek ju odstrániť nemôžeme. Poznáme však tzv. lyofilizáciu, čo je odstránenie vody zo zamrznutých látok alebo produktov. V mikrobiológii sa lyofilizácia používa na uchovávanie kultúr mikroorganizmov už od r. 1941 a je založená na príprave vhodnej suspenzie mikroorganizmov vo vhodnom prostredí. Suspenzia sa v malých skúmavkách zmrazi pri teplote - 40 až - 50 °C. Následne sa zmrazené kultúry vysušia pri vysokom podtlaku a skúmavky sa zatavia. Lyofilizované kultúry mikroorganizmov si svoju životaschopnosť zachovávajú aj niekoľko rokov, pričom sa nemenia ani ich morfológické ani ich biochemické vlastnosti. Ak sa k lyofilizovanej kultúre pridá vhodné prostredie, mikroorganizmus sa znova pomnoží.

Obsah vody kolíše u rôznych druhov mikroorganizmov, ale tiež v rámci jedného druhu. Toto kolísanie je spôsobené vnútornými činiteľmi medzi, ktoré patrí napr. starnutie bunky, keď obsah vody značne klesá, a tiež vonkajšími činiteľmi, napr. vysychanie. Mikroorganizmy vytvárajú spóry, cysty alebo iné hrubostenné útvary, ktoré im pomáhajú prečkať nepriaznivé obdobie. Voda je ideálnym rozpúšťadlom pre anorganické soli alebo nízkomolekulové organické zlúčeniny. Je dôležitým transportným médiom, vďaka ktorému sa rôzne zlúčeniny dostanú na potrebné miesto v bunke. Voda sa tiež sama podieľa na chemických reakciách a to jednak ako produkt (pri dýchaní, pri hydrolýze) alebo ako partner. Je aktivátorom chemických reakcií, spôsobuje disociáciu (rozklad, štiepenie) mnohých anorganických zlúčenín na katióny a anióny. Umožňuje priebeh takej reakcie, ktorá by sa v bezvodom prostredí nemohla uskutočniť. Voda je dobrým vodičom tepla, a tiež činiteľom, ktorý vytvára stálosť vnútorného prostredia.



Obr. 9. Látkové zloženie mikroorganizmov (Šimonovičová a kol. 2002, 2008).

Popoloviny sú anorganické zlúčeniny, ktoré po spálení sušiny neprechádzajú do plynného stavu. Tvoria 5 - 10 % sušiny mikroorganizmov. Ich dôležitým podielom sú najmä draselné fosfáty. Z nich ortofosfát ako slabá kyselina tvorí pufrovací systém v bunkách mikroorganizmov. Množstvo popolovín kolíše od druhu mikroorganizmu a od veku kultúry. Veľký vplyv má tiež živné prostredie.

Plyny v zastúpení CO₂, O₂ a N₂ sú lokalizované v plynových vakuolách.

Organické látky - nízkomolekulové

Sacharidy delíme podľa počtu cukorných jednotiek, t. j. podľa polymerizačného stupňa na monosacharidy (obsahujú 1 cukornú jednotku), disacharidy (obsahujú 2 cukorné jednotky), oligosacharidy (obsahujú 2 - 10 cukorných jednotiek), polysacharidy (obsahujú do 100 000 cukorných jednotiek). Sacharidy sú vo vode ľahko rozpustné. V organických rozpúšťadlách a tukoch sa nerozpúšťajú.

Monosacharidy sú oxidačné produkty viacmocných alkoholov. Tvorí ich iba jedna cukorná jednotka a nedajú sa štiepiť na jednoduchšie cukry. Biologické monosacharidy sú D-aldózy (majú aldehydickú skupinu, napr. 3 atómy C - glyceraldehyd, 4 atómy C - erytróza, 5 atómov C - ribóza, xylóza, 6 atómov C - glukóza) a D-ketózy (majú ketoskupinu, napr. 3 atómy C - dihydroxyacetón, 4 atómy C - erytrulóza, 5 atómov C - ribulóza, xylulóza, 6 atómov C - fruktóza). Vlastnosti cukrov sú podmienené mnohými –OH skupinami.

Podľa počtu C delíme monosacharidy na: triózy (3C) - napr. D-glyceraldehyd; tetrózy (4C) - napr. treóza, erytróza, erytrulóza, ktoré vznikajú ako medziprodukty v metabolizme sacharidov; pentózy (5C) - napr. D-ribóza, ktorá je súčasťou RNA, 2-dezoxy-D-ribóza, ktorá je súčasťou DNA, arabinóza, ktorá je súčasťou arabskej gummy, xylóza je súčasťou hemicelulózy; hexózy (6C) - napr. D-glukóza (hroznový cukor), ktorá je najviac rozšírená v ovocí, v rastlinných šťavách, v mede a v krvi, galaktóza (mliečny cukor), D-fruktóza, ktorá je v ovocí.

- Disacharidy sú tvorené 2 molekulami monosacharidov, ktoré sú spojené glykozidovou väzbou. Molekuly glukózy tvoria maltózu, trehalózu, celobiózu, pričom ich chemické a biologické vlastnosti sú celkom odlišné.
- Oligosacharidy pozostávajú z 2 až 12 molekúl monosacharidov. Patrí sem napr. sacharóza (repný cukor), ktorú tvorí glukóza a fruktóza, laktóza (mliečny cukor), maltóza, celobióza, rafinóza.

Lipidy sú estery vyšších mastných kyselín s jednomocným alkoholom alebo glycerolom. Sú nerozpustné vo vode, len v organických rozpúšťadlách ako je napr. benzén, éter, chloroform. V telách mikroorganizmov sa nachádzajú voľné mastné kyseliny, neutrálne tuky - triglyceridy, fosfatidy - fosfolipoidy, glykolipoidy, terpénové deriváty - steroly, uhľovodíky. Lipidy sú zásobné, napr. triglyceridy a vosky, ktoré sa nachádzajú v bunkách vo forme kvapiek. Všetky ostatné lipidy, lipoidy a tukom podobné substancie, napr. voľné mastné kyseliny a fosfatidy tvoria tzv. štruktúrne zložky. Podieľajú sa najmä na stavbe membrán a bunkových stien. Lipidy sú kaloricky veľmi bohaté. Tie látky, ktoré prijal

organizmus v nadmernom množstve sa ukladajú ako rezerva a keď ich organizmus potrebuje, tak sa odbúravajú enzýmami lipázami.

Aminokyseliny, peptidy, purínové a pyrimidínové deriváty (ako zložky makromolekúl):

Aminokyseliny sú organické kyseliny, v ktorých je jeden alebo viac H nahradených aminoskupinou $-NH_2$. Vodík môže byť nahradený aj skupinou $-OH$ a $-SH$ (sírne aminokyseliny). Sú to základné stavebné jednotky bielkovín, ktoré sú schopné spolu reagovať a vytvárajú medzi sebou peptidické väzby.

Peptidy vznikajú spojením viacerých aminokyselín pomocou peptidických väzieb. Sú rôznej dĺžky, t. j. podľa počtu aminokyselín poznáme napr. dipeptidy (2 aminokyseliny), tripeptidy (3 aminokyseliny). Peptidy pozostávajúce z viac ako 100 aminokyselín vytvárajú proteín, t. j. bielkovinu. Medzi peptidy patria tiež hormóny a jedy (napr. botulotoxín, tetanotoxín) a tiež antibiotiká (aktinomycín, gramicidín).

Purínové a pyrimidínové bázy sú súčasťou nukleotidov, pričom purínové bázy sú adenín (A), guanín (G) a pyrimidínové bázy tymín (T), cytozín (C) a uracyl (U). Párovanie báz je pre nukleové kyseliny nasledovné: v DNA sa páruje A s T a G s C, v RNA sa páruje A s U a G s C.

Koenzyémy, vitamíny, hormóny a iné rastové látky sa zúčastňujú na regulačných procesoch. Koenzyémy sú nízkomolekulové látky, ktoré tvoria súčasť enzýmov. Koenzýmom môže byť vitamín, ale napr. aj kov. Mnohé mikroorganizmy sú aktívnymi producentami vitamínov, hormónov a rôznych rastových látok. Je to komplexná skupina organických biokatalyzátorov, ktoré sú špecifické a vytvárané len živou bunkou. Účinné sú len prostredníctvom enzýmov. Mikroorganizmy obsahujú najmä vitamíny skupiny B (B_1 , B_2 , B_6 , B_{12}) a niektoré provitamíny rozpustné v tukoch. Vitamíny zo skupiny B tvoria napr. *Escherichia coli*, hrčkotvorné baktérie, *Azotobacter* sp., mnohé sporulujúce baktérie, aktinomycéty, mikroskopické huby a najmä kvasinky.

Aromatické zlúčeniny, terpény, alkaloidy predstavujú skupinu látok, ktorých funkcia nie je dostatočne známa. Patria k tzv. sekundárnym metabolitom.

Vysokomolekulové biopolyméry

Polysacharidy tvorí do 100 000 monosacharidových jednotiek. Z chemického hľadiska ich delíme na jednoduché homoglykany, ktoré sú tvorené len jedným typom monosacharidov a komplexné polysacharidy heteroglykany, ktoré sú tvorené rôznymi typmi monosacharidov.

Z biologického hľadiska ich delíme na rezervné (zásobné), napr. amylóza, amylopektín, škrob, glykogén a stavebné (štruktúrne), napr. celulóza, hemicelulóza, chitín.

Proteíny (bielkoviny) a enzýmy

Bielkoviny sú základnými zlúčeninami živej hmoty. Skladajú sa z jedného alebo z viacerých peptidických reťazcov, pričom každý peptidický reťazec obsahuje až niekoľko 100 aminokyselín. Poradie aminokyselín v peptidickom reťazci je dané geneticky. Primárna štruktúra bielkovín je geneticky určená poradím aminokyselín v reťazci. Sekundárna štruktúra bielkovín je určená priestorovým geometrickým usporiadaním susedných aminokyselinových zvyškov a predstavuje tzv. helix štruktúru. Terciárna štruktúra bielkovín je určená priestorovým usporiadaním nesusedných aminokyselinových zvyškov. Je to trojrozmerné usporiadanie. Kvartérna štruktúra bielkovín je určená usporiadaním jednotlivých polypeptidických reťazcov v bielkovine. Len táto forma je schopná vykonávať biologickú funkciu bielkoviny. Porušenie terciárnej a kvartérnej štruktúry bielkovín vedie k strate funkcie, k tzv. denaturácii bielkovín. Príčinou denaturácie môže byť zmena pH, pôsobenie organických rozpúšťadiel. Viditeľným znakom a prejavom denaturácie bielkovín je ich koagulácia, napr. vysokými teplotami.

Veľmi veľa bielkovín majú okrem polypeptidických reťazcov aj neproteínové zlúčeniny (tzv. prostetické skupiny). Spolu vytvárajú komplexné proteíny, tzv. proteidy. Napr. nukleoproteidy = proteín + nukleové kyseliny (ribozóm), glykoproteidy = proteín + sacharidy (štruktúry bunkovej steny), lipoproteidy = proteín + lipoid (membránové štruktúry).

Enzýmy sú látky, za účasti ktorých sa v bunke uskutočňujú všetky biochemické reakcie. Enzýmy pôsobia ako katalyzátory, t. j. všetky chemické reakcie buď spomaľujú (inhibujú) alebo urýchľujú (stimulujú). Nachádzajú sa v bunke v koloidnom stave alebo môžu byť viazané na bunkové štruktúry. Enzýmy sú veľmi aktívne a to i v malom množstve a vysoko špecifické. Sú špecifické buď na substrát (tzv. substrátová špecificita) alebo na účinok, keď katalyzujú len jeden druh reakcie (tzv. špecificita účinku). Enzýmy sú veľmi labilné a v zmenených podmienkach, napr. zmena pH alebo teploty strácajú svoju aktivitu. Je to spôsobené tým, že sú to bielkoviny, ktoré sú na zmeny prostredia veľmi citlivé.

Niektoré enzýmy majú okrem bielkoviny aj tzv. prostetickú nebielkovinovú skupinu:

enzým (holoenzým) = apoenzým + koenzým,

pričom: apoenzým je bielkovina, ktorá je úzko špecifická a reaguje len s určitým substrátom a koenzým je nízkomolekulová látka, napr. vitamín alebo i kov (metaloenzým).

Rýchlosť enzýmovej reakcie závisí tak od množstva enzýmu, ako aj od koncentrácie substrátu. Väčšina enzýmov je účinná aj vo veľmi silnom zriedení. Enzýmy, ktoré sú už pre bunku nepotrebné sa rozkladajú až na aminokyseliny a tie sa môžu použiť na stavbu nových bielkovín.

Nukleové kyseliny sú biologické makromolekuly, ktoré pozostávajú z nukleotidov. Nukleotid tvorí dusíkatá organická báza purínová (adenín, guanín), pyrimidínová (tymín, cytozín, uracyl), sacharidová zložka, ktorou je pentóza (dezoxiribóza u DNA a ribóza u RNA) a kyselina fosforečná.

Deoxyribonukleová kyselina - DNA - je dvojzávitnicová. Purínové a pyrimidínové bázy (A, T a G, C) sú pospájané vodíkovými mostíkmi. DNA sa nachádza v jadre ako súčasť chromozómov. Je nositeľkou genetickej informácie, ktorá je určená poradím nukleotidov. Toto poradie sa prepíše do poradia aminokyselín v bielkovinách. Genetická informácia sa prenáša tým, že DNA je schopná sa rozplieť a dosyntetizovať si chýbajúci reťazec.

Druhy DNA:

- **jednovláknová DNA**, ktorej chýba komplementárne vlákno. V živých bunkách sa bežne nevyskytuje. Ako svoju genetickú informáciu ju môžu obsahovať niektoré druhy vírusov,
- **dvojvláknová DNA** je zložená z obidvoch vláken. V tejto forme sa nachádza v živých bunkách a túto formu opúšťa len v krátkych úsekoch a na krátku dobu, napr. počas replikácie alebo transkripcie,
- **genómická DNA** - chromozómová DNA,
- **chloroplastová DNA** - DNA nachádzajúca sa v chloroplastoch, v organelách rias a rastlín,
- **mitochondriálna DNA** - DNA nachádzajúca sa v mitochondriách, organelách väčšiny eukaryotických organizmov.

Štruktúra DNA:

- **primárna štruktúra** - DNA je polymér, molekula zložená z mnohých jednotiek, tzv. monomérov (nukleotidov). V prípade DNA sú to deoxyribonukleotidy, ktoré sú do polynukleotidového reťazca spojené esterovou väzbou.
- **sekundárna štruktúra** je priestorové usporiadanie polynukleotidového reťazca. Dva reťazce DNA sa spájajú vodíkovými väzbami komplementárnych nukleových báz. Dvojvlákno má najčastejšie tvar pravotočivej dvojzávitnice, tzv. **α -helixu**.
- **terciárna štruktúra** predstavuje priestorové usporiadanie dvojzávitnice. Tá sa môže stočiť do superhelixu spôsobom tzv. nadzávitnicového vinutia. Takto zvinutá DNA sa nazýva superšpiralizovaná a môže byť dvojvláknová, ktorá je uzavretá do kruhu alebo lineárna dvojvláknová, ktorej konce sú pripevnené o podklad. Dvojzávitnicová DNA bez terciárnej štruktúry sa nazýva relaxovaná DNA.

Ribonukleová kyselina - RNA - je jednozávitnica nachádzajúca sa v bunkovom jadre a v cytoplazme. Z dusíkatých báz obsahuje A, U a C, G. Podľa funkcie rozoznávame tzv.:

- r-RNA (ribozómová), ktorá je lokalizovaná v ribozómoch, kde sa syntetizujú polypeptidové reťazce bielkovín v bunke,
- t-RNA (transférová), ktorá prenáša aktivované aminokyseliny do ribozómov, kde prebieha syntéza bielkovín. Jedna t-RNA prenáša len jednu určitú aminokyselinu,
- m-RNA (mesengerová, resp. i-RNA informačná). Do nej sa prepisuje genetická informácia, podľa ktorej sa syntetizujú nové bielkoviny.

V bunkách prevláda r-RNA (viac ako 80 %) a najmenší podiel má m-RNA (1 až 5 %). Pri syntéze bielkovín sa zúčastňujú ribozómová a transférová RNA.

1. 5. Základné rozdelenie mikroorganizmov

Mikroorganizmy sú malé, voľným okom neviditeľné, jedno i viacbunkové organizmy. Podľa morfológie a podľa toho, či má bunka schopnosť autonómnu, autoregulačnú a autoreprodukčnú ich delíme na:

1. **Bez bunkové**, resp. nebunkové organizmy - vírusy a bakteriofágy a filtrovateľné formy baktérií. Tieto majú iba jeden typ nukleovej kyseliny, nie sú schopné rásť a deliť sa bez iného živého organizmu, nemajú genetickú informáciu potrebnú pre syntézu vlastných bunkových foriem. K tomuto využívajú ribozómy hostiteľských buniek.

2. **Bunkové organizmy** delíme na prokaryotické (prokaryonty) a eukaryotické (eukaryonty).

Prokaryotické organizmy - *Archaea* (archebaktérie), sinice a baktérie sú jednobunkové alebo vytvárajú plazmódium, ich jadrová hmota nemá jadrovú membránu.

Eukaryotické organizmy - riasy, prvoky a huby sú jednobunkové, viacbunkové alebo vytvárajú plazmódium. Majú vytvorené jedno alebo viac jadier, ktoré sú obalené jadrovou membránou.

Bezbunkové organizmy

Vírusy

Vírusy nie sú samostatne žijúce organizmy, t. j. nie sú schopné rásť a deliť sa samy o sebe. Žijú a rozmnožujú sa len v žijúcich (metabolizujúcich) bunkách baktérií (bakteriofágy), húb, rastlín, živočíchov a človeka. Nemajú genetickú informáciu, ktorá je potrebná pre syntézu vlastných bunkových foriem. Na to využívajú ribozómy hostiteľských, tak prokaryotických ako aj eukaryotických buniek. Sú to vlastne parazity na genetickej úrovni.

Vírusy sa skladajú z nukleovej kyseliny, ktorá je obyčajne len jedna (RNA alebo DNA) a z bielkoviny. Nukleové kyseliny sú obalené molekulami bielkovín, ktoré sa zoskupujú do štruktúrnych subjednotiek tzv. kapsomér. Všetky kapsoméry spolu tvoria štruktúrnu jednotku, tzv. kapsid alebo obal, na ktorom môžu byť i lipidy, sacharidy alebo glykoproteíny. Obal má jednak ochrannú funkciu, jednak sa uplatňuje aj v procese adsorpcie na hostiteľskú bunku. Vírusy majú veľmi malé rozmery od 20 do 300 nm. Podľa štruktúry môžu byť vírusy závitnicové, kryštalické, kubické, tyčinkovité nepravidelné a pod. Napr., závitnicový vírus tabakovej mozaiky (Obr. 10) obsahuje RNA stočenú do 130 závitov so 6 390 nukleotidmi. Závitnicu nukleovej kyseliny obaľuje 42 130 kapsomérov, pričom každý kapsomér je spojený s tromi nukleotidmi RNA. Vírus tabakovej mozaiky je dlhý 300 nm a široký 18 nm. Vírusy kryštalickej (polyhedralnej) štruktúry (napr. adenovírusy, HIV vírus) sú viac odolné. Ich steny majú tvar rovnostranných trojuholníkov, ktoré sa pretínajú v 30 hranách a 12 vrcholoch. Nukleová kyselina je uložená vo vnútri bielkovinového obalu (Obr. 11).

Vírusy sú vždy intracelulárne a vysoko špecifické parazity, ktoré spôsobujú ochorenie rastlín (tzv. mozaikové choroby), živočíchov (napr. slintačka, krívačka, besnota) i ľudí (napr.

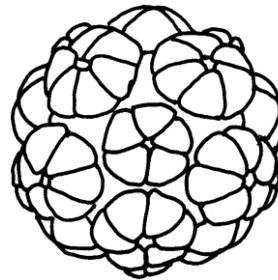
žltá zimnica, encefalitída, obrna). Nedajú sa kultivovať na syntetických živných pôdach. Sú menšie ako baktérie a viditeľné len elektrónovým mikroskopom.

Vírusy delíme na:

- bakteriálne vírusy - bakteriofágy,
- rastlinné vírusy - napr. vírus tabakovej mozaiky, vírus nekrózy tabaku, vírusy viacerých kultúrnych rastlín (napr. fazule),
- živočíšne vírusy - napr. vírus moru hydiny, vírus chrípky, onkogénne vírusy (ich interakcia s hostiteľskou bunkou spôsobuje vznik nádorovej, tzv. malígnej bunky),
- ostatné vírusy - t. j. tie, ktoré sa replikujú v aktinomycétach (tzv. aktinofágy), hubách (tzv. mykofágy), siniciach (tzv. cyanofágy).



Obr. 10. Závitnicová štruktúra vírusu
(Šimonovičová a kol. 2002, 2008).



Obr. 11. Kryštalická štruktúra vírusu
(Šimonovičová a kol. 2002, 2008).

Podľa typu nukleovej kyseliny možno vírusy rozdeliť na:

- RNA vírusy** - myxovírusy (napr. vírus chrípky, vírus moru hydiny),
- paramyxovírusy (napr. vírus osýpok, ružienky, zápalu príušnic,
 - rabdomyxovírusy (napr. vírus besnoty),
 - arbovírusy (napr. vírus žltej zimnice, pôvodca kliešťovej encefalitídy),

- pikornavírusy (napr. vírus poliomyelitídy, t.j. detskej obrny, slintačky, krívačky).

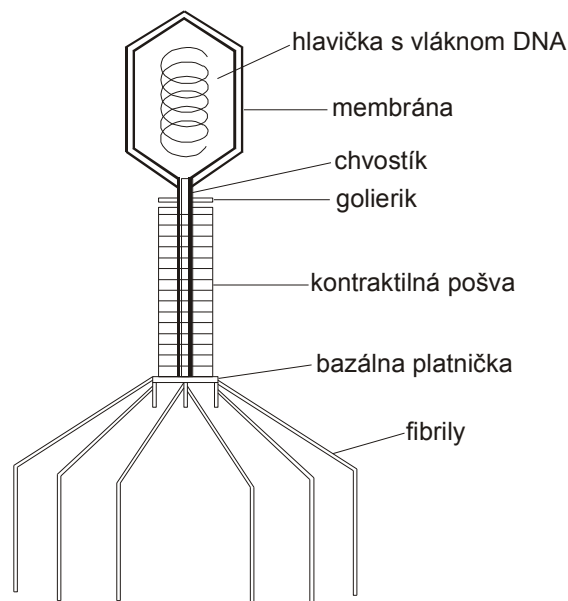
DNA vírusy - poxvírusy (napr. vírus pravých kiahní, tzv. varioly),

- nitavírusy (napr. vírus herpes simplex, herpes zoster, vírus ovčích kiahní, varicela),
- papovavírusy (napr. pôvodcovia bradavíc).

Preveniou pred vírusovým ochorením môže byť aj imunizácia, t. j. očkovanie oslabeným kmeňom.

Bakteriofágy

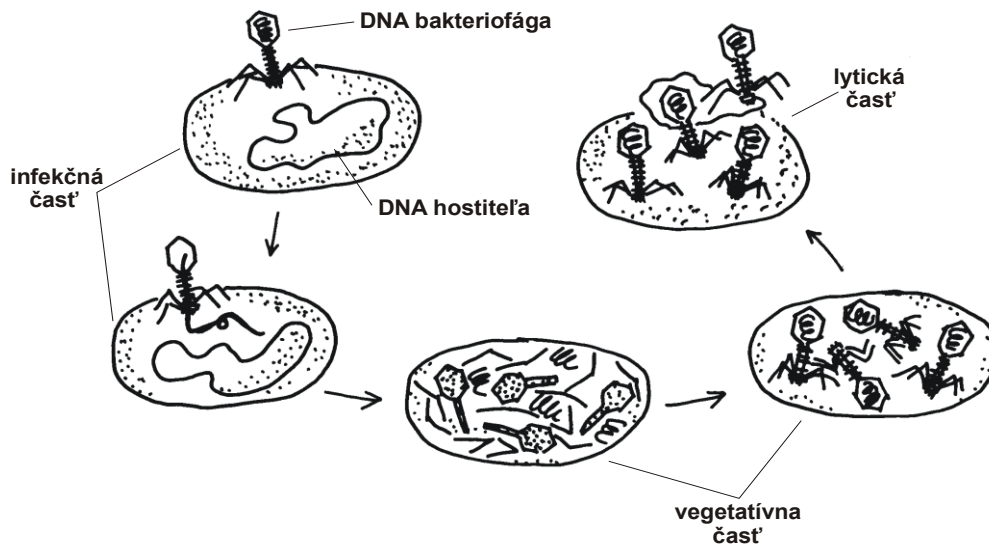
Sú vírusy, ktoré napádajú baktérie. Ich telo pozostáva zo šesťuholníkovej hlavičky s vláknom nukleovej kyseliny, z chvostíka, na ktorom je golierik, z kontraktilnej pošvy a bazálnej platničky a z fibríl, ktoré slúžia na prichytenie k hostiteľovi (Obr. 12).



Obr. 12. Štruktúra bakteriofága (Šimonovičová a kol. 2002, 2008).

Schopnosťou bakteriofága je lyzogenia až lýza bakteriálnych buniek. Lyzogenia je stav, kedy vírus, ktorý napadol bunku sa zapojil do jej vlastného genómu ako provírus. Provírus môže ostať v klude (ako nemý), ale za určitých okolností sa môže aktivovať a jeho replikácia

môže spôsobiť až lýzu bunky, t. j. rozpúšťanie. Bakteriofágy sú odolné voči vysušeniu, dobre tiež znášajú teploty do 80 °C. Žijú len na živých bakteriálnych bunkách a rozmnožujú sa súčasne s rozmnožovaním baktérií.



Obr. 13. Životný cyklus bakteriofága (Šimonovičová a kol. 2002, 2008).

Životný cyklus bakteriofága má 3 časti (Obr. 13):

1. **infekčnú** - fágové častice sa prichytia pomocou fibríl na baktériu a DNA preniká cez chvostík do vnútra bunky, kde sa napojí na DNA hostiteľa,
2. **vegetatívnu** - v infikovanej bakteriálnej bunke hostiteľská DNA dáva základ pre replikáciu genetického materiálu a tvorbu nových špecifických štruktúr fága. Tieto špecifické štruktúry sa komplementujú do nových, zrelých bakteriofágov,
3. **lytickú** - dochádza k lýze, t. j. rozpusteniu bakteriálnej bunky. Do prostredia sa uvoľňujú novovytvorené fágy, ktoré môžu infikovať ďalšie bunky.

Filtrovateľné formy baktérií

Mnohé baktérie v nepriaznivých podmienkach, napr. pôsobením rôznych stresových faktorov (antibiotiká, pôsobenie bakteriofága, hladovanie, prudké zmrazovanie a opätovné rozmrazovanie a pod.) sú schopné prejsť do tzv. neviditeľnej formy. Rozumieme tým, že sú pre nás neviditeľné vo svetelnom mikroskope a vytvárajú tzv. filtrovateľné formy. V priaznivých podmienkach, t. j. keď stresový faktor prestane pôsobiť, baktérie sú schopné opätovne nadobudnúť svoju pôvodnú formu a tvar. Tento spätný proces trvá pomerne dlho,

môže i niekoľko mesiacov. Prvé baktérie sa od pôvodných vždy trochu líšia a až pri niekoľkonásobnom množení, resp. pasážovaní nadobudnú pôvodný tvar a všetky ostatné funkcie.

Medzi nebunkové častice sa, v súčasnej dobe, zaraďujú ešte dve formy patogénnych biomolekúl. Tieto subvírusové častice, ktoré sa správajú ako vírusy, nemajú štruktúrne a funkčné charakteristiky vírusov, sú viroidy a prióny, ktoré je ťažko zaradiť.

Viroidy - predstavujú holú, do kruhu uzavretú jednoreťazcovú molekulu RNA. Nemajú bielkovinový obal ako vírusy a ani žiaden iný proteín nie je ich súčasťou. Viroidy sú veľmi malé molekuly, menšie ako najmenšie vírusy. Ich relatívna molekulová hmotnosť je asi 100 000 a dĺžka asi 300 nukleotidov. Takáto molekula by mohla kódovať najviac proteín so 100 aminokyselinami, t. j. proteín veľmi malý. Predpokladá sa, že zrejme nekódujú žiadny vlastný enzým. Viroidy sú infekčné a patogénne molekuly, ktoré spôsobujú ochorenia najmä rastlín, napr. zemiakov, rajčiakov, uhoriek, chmeľu a pod.

Prióny - predstavujú iba proteínové molekuly, a pretože neobsahujú nukleové kyseliny, nie je doteraz známy spôsob ich rozmnožovania. Sú to dormantné formy - živé, ale nekultivovateľné. Prióny spôsobujú ochorenia zvierat a ľudí. U zvierat sú najznámejšie tzv. scrapie oviec a kôz a tzv. choroba šialených kráv u hovädzieho dobytku. U ľudí je to tzv. kuru a Creutzfeldtova-Jakobova choroba. Tieto ochorenia spôsobujú degeneratívne zmeny v centrálnej nervovej sústave označované ako špongioformná encefalopatia, pretože mozog chorých nadobúda špongiovitý vzhľad. Všetky ochorenia sú prenosné tak medzi jedincami ako aj na potomstvo. V prípade scrapie bol z infekčného materiálu izolovaný priónový proteín (PrP) a stanovená sekvencia aminokyselín na jeho jednej koncovej časti. Podľa nej bola zostavená nukleová kyselina ako molekulárna sonda, pomocou ktorej sa dokázalo, že v bunkách cicavcov existuje zodpovedajúci PrP gén kódujúci tento proteín. PrP proteín je za normálnych okolností nepatogénny. Nachádza sa v určitom sebe vlastnom usporiadaní. V chorých bunkách je tento proteín v inom usporiadaní. Ak sa tento „chorý“ proteín dostane do fyzického kontaktu so „zdravým“ proteínom, vyvolá jeho zmenu na „chorý“ proteín, ktorý potom pôsobí na ďalší „zdravý“ proteín a pod. Týmto tzv. domino efektom vzniká ochorenie, ktoré sa pravdepodobne odohráva na bunkovej membráne. Ak vznikne, ochorenie proteínov mutáciou v PrP géne, stáva sa dedičným.