

Mikroorganizmusok anyagcseréje, növekedése, szaporodása

A baktériumok szaporodása

- egy baktérium:
 - növekedés
 - osztódás - haránthasadással
- egy baktérium populáció:
 - szaporodás

Sejtosztódás

- a sejt növekedése
- a sejt alkotóelemeinek kialakulása
- az RNS mennyiségének növekedése
- fokozott fehérjeszintézis
- citoplazma és maganyag kettéosztódása
- befűződés
- kialakul a két leánysejt

Sejtszám meghatározás

- Össz-sejtszám
 - mikroszkóposan
 - spektrofotometriásan
- Élő csíraszám
 - telepképző egységek – CFU

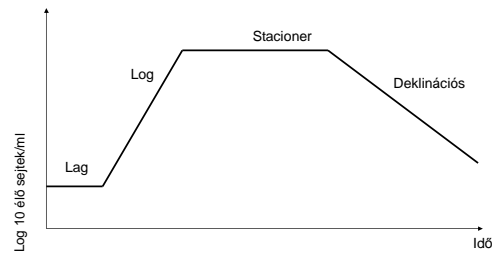
Generációs idő

- biomassa tömege kétszeresére nő
- két egymást követő osztódás közötti idő
 - orvosi szempontból fontos baktériumoknál általában 20-40 perc
 - *Mycobacterium tuberculosis* 20 óra

A baktériumok szaporodásának dinamikája

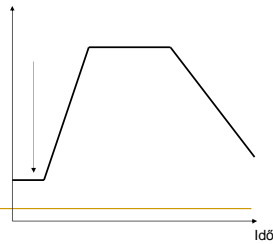
- folyékony táptalajban létrehozott tenyészet esetén tanulmányozható
- élő sejtek számának meghatározása

A szaporodási görbe



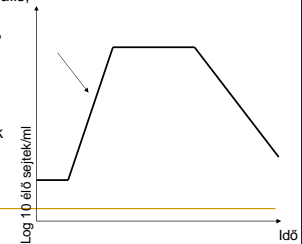
Lag vagy adaptációs szakasz

- az új környezethez való alkalmazkodás szakasza
- nincs sejtosztódás – baktériumok száma változatlan
- intenzív szintetikus folyamatok
- időtartama: kb. 2 óra



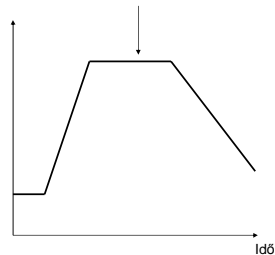
Log vagy exponenciális szakasz

- a sejtszám exponenciálisan nő
- a baktériumok tulajdonságai jellegzetesek (alakatan és festődés, anyagcsere optimális, biokémiai aktivitás, antigénszerkezet, virulencia, toxintermelés)
- időtartama: 8-12 óra
- tápanyagok mennyiségének csökkenése
- toxikus anyagcseretermékek felhalmozódása



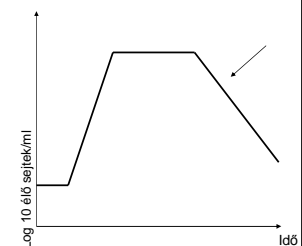
Stationer szakasz

- M koncentráció fázisa
- élő csíraszám allandósul, ugyanannyi utódsejt képződik, mint amennyi elpusztul
- egyes fajoknál spóráképzés
- élő állapot osztódás nélkül
- időtartama: egy óra – néhány nap (ált. 5-6 óra)



Deklinációs szakasz

- csökken az élő sejtek száma, pusztulások száma nagyobb mint az osztódással létrejövő sejtek száma
- tenyészet autosterilizációja
- sejtek tulajdonságai megváltoznak (pleomorfizmus), autólízis
- időtartama: változó, fajtól függ
 - *N. gonorrhoeae* 2 nap
 - *M. tuberculosis* 2-3 hét

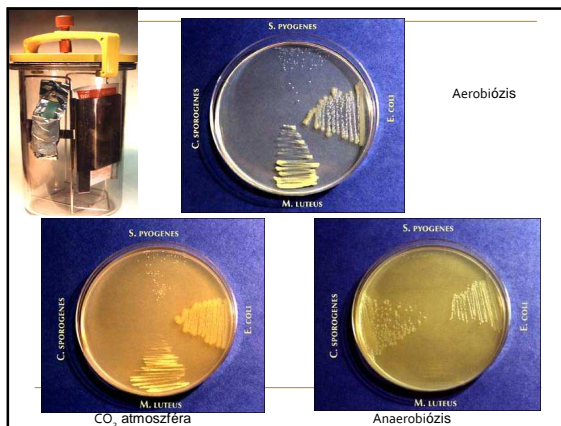


A baktériumok tápigénye, táplálkozási típusok

- **autotróf:** tápigényüket szervesen forrásból fedezik (foto- és kemoszintetizáló)
 - Szénforrás: levegő CO₂
 - Nitrogénforrás: ammóniumsók vagy légköri nitrogén
- **heterotróf:** anyagcseréjükhez szerves vegyületeket is igényelnek (kemoszintetizáló)
 - Szénforrás: csak szerves anyag
 - Nitrogénforrás: szerves vagy szervesen anyagok
- **paratróf:** citoparazita baktériumok, csak élő sejtekben életképesek, nem tenyésztethők mesterséges táptalajokon

A baktériumok energianyerése

- aerob
- aerob, fakultatív anaerob
- anaerob
- mikroaerofil



A baktériumok tenyésztése

- leoltás – megfelelő körülményeket biztosítunk a baktériumok számára, kialakul a **tenyészet**.
- szaporodáshoz szükséges tápanyagokat a **táptalaj** biztosítja.

Táptalajok

- Halmazállapot szerint
 - folyékony
 - félfolyékony
 - szilárd
- Összetétel szerint
 - egyszerű vagy alaptáptalajok
 - összetett táptalajok

Egyszerű táptalajok

- igénytelen kórokozók számára megfelelőek
- folyékony változat: húsleves (bouillon)
- szilárd változat: sima agar (egyszerű agar)
 - magas agar
 - ferde agar
 - lemez agar

Összetett táptalajok

- **Komplex**
 - igényes baktériumok számára
 - vért, glukózt vagy szérumot adunk az egyszerű táptalajhoz (pl. véres agar)
- **Speciális**
 - különleges igényekkel rendelkező baktériumok számára
- Dúsító
- Szelektív
- Differenciáló
- Szelektív és differenciáló
- Transzport tápközegek

Inkubálási körülmények

- megfelelő hőmérséklet
- relatív páratartalom
- igényeknek megfelelően aerob, anaerob vagy mikroaerofilek számára optimális körülmények

Leoltás

- folyékony táptalajba
- szilárd táptalaj esetén
 - a táptalaj felszínére
 - szélesztéssel
 - szektorban
 - a táptalajba
 - két réteg közé
 - beszúrással
 - összekeverve a baktériumokat tartalmazó anyagot a táptalajjal

Telep

- szilárd táptalajon alakul ki
- egyetlen baktériumsejtből jön létre

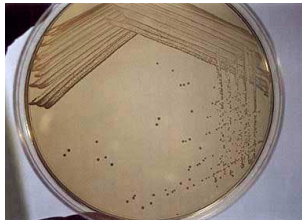
Tenyészet

- folyékony táptalajban alakul ki
- szilárd táptalajon levő telepek összessége
 - **vegyes tenyészet** – többféle baktériumot tartalmaz
 - **színtenyészet** (tisztá tenyészet) – egyféle baktériumot tartalmaz

Teleptípusok (méret, alak, felület, szélek)

- **S típus** – virulens formáknál
- **R típus** – avirulens formáknál
 - **Kivételek** – *M. tuberculosis*, *C. diphtheriae*, *B. anthracis*
- **M típus** – tokos törzseknél
- **Rajzás** jelensége – *Proteus* spp.
- Vajkonzisztenciájú telepek - *Candida*
- Bolyhos telepek - penészgombák

Szélesztés



Helytelen leoltás



A tenyészet felülfertőződése



S típusú telepek



S típusú telepek



R típusú telepek



R típusú telep



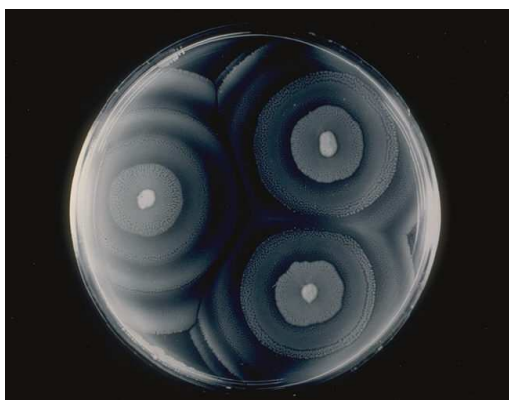
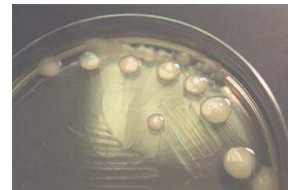
Mycobacterium tuberculosis



M típusú telepek



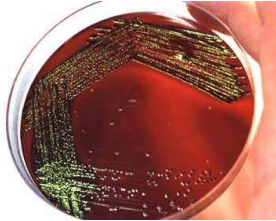
M típusú telepek



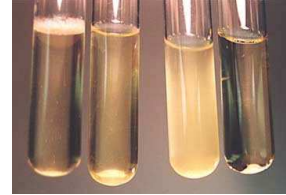
Proteus spp.



E. coli (Levine - EMB)



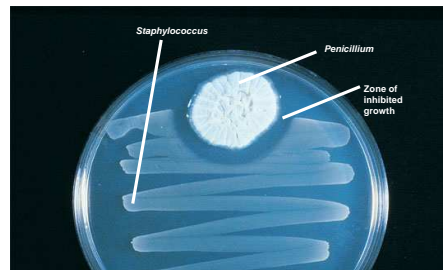
Tenyésztési tulajdonságok folyékony táptalajban



A gombák anyagcseréje és szaporodása

- Sarjadzó gombák: fakultatív anaerob
- Fonális gombák: obligát aerob
- Heterotrof
 - Szénforrás szerves
 - Nitrogénforrás szervesen is lehet
- Vitaminok: serkentik/gátolják az anyagcserét
- Anyagcsere végtermékek:
 - Antibiotikus hatású anyagok
 - Toxinok (karcinogén hatás)
 - Alkaloidák (LSD)

Antibakteriális hatású anyagok termelése

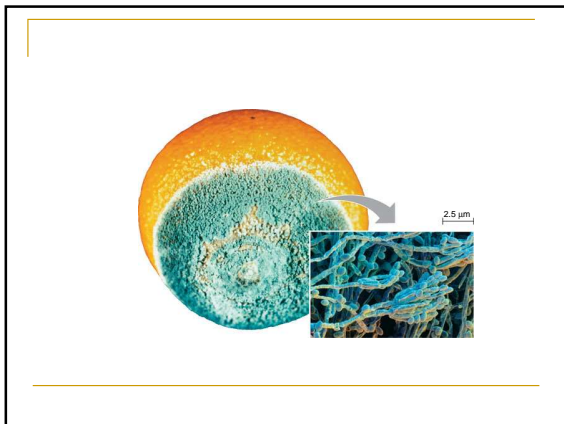
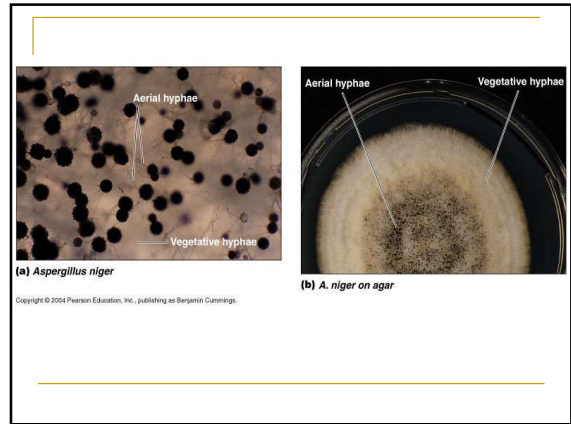
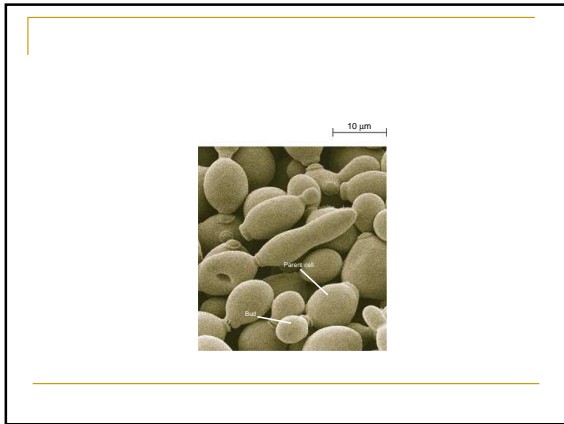


Tenyésztési körülmények

- pH enyhén savas: 5,5-7,2
- hőmérséklet: 20-30°C
- lassúbb szaporodási ütem, mint a baktériumoknál
 - sarjadzó gomba – 48h
 - fonális gomba – 2-3 hét
- polimorfizmus
 - környezeti tényezők
 - tenyésztés kora

A gombák szaporodása

- Aszexuális szaporodás – jellegzetes spórák
 - sejtosztódás
 - sporuláció
 - sarjadzás
 - hifák fragmentációja
 - arthrospora, chlamydo spora, conidiumok, blastospora, sporangiospora
- szexuális szaporodás
 - diploid állapot átmeneti jellegű
 - donorsejt magja bejut a recipiensbe, magfúzió, meiózisz
 - szexuális spórák – zygospora, ascospora, basidiospora



A protozoonok táplálkozása

- szájnyílás (*cytostoma*) – szilárd táplálék felvételére szolgál
 - más protozoonok, algák, baktériumok
 - bekebelezés – a vacuolákban az enzimek lebontják
 - oldott táplálék – citoplazmában
- oldhatatlan anyagok
 - anális pórus (*cytopyge*)
 - vacuolum tartalma kiürül
- Sporozoák baktériumokhoz hasonlóan táplálkoznak

A protozoonok szaporodása

- Aszexuális
 - a szülősejt osztódása után két vagy több utódsejt keletkezik
 - leggyakoribb a kettéosztódás
 - többszörös osztódás - *schizogonia* – először többmagvú sejt jön létre majd a citoplazma is osztódik - nagyszámú egymagvú sejt

A protozoonok szaporodása

- Szexuális
 - Két különböző nemű gaméta egyesülése - *syngamia*
 - Azonos nagyságú és alakú gaméták: *isogaméták*
 - Egymástól különböző gaméták: *anisogaméták*

- isogamia
 - az isogaméták ideiglenesen összeolvadnak
- anisogamia
 - hím – microgaméta
 - nőstény – macrogaméta
 - Sporogonia – zygota burokba zárva – oocysta – sokszoros osztódás – sporozoita
- vegyes szaporodási ciklus – gazdacserével is kapcsolatos
 - végső gazdában szexuális szaporodás
 - köztgazdában aszexuális szaporodás

A vírusok replikációja

- Vírusok szaporodása
- ÉLŐ, FOGÉKONY SEJT BEN
- A vírusok által kódolt fehérjék:
 - részt vesznek a nukleinsav replikációban és a virionok összeépülésében
 - megváltoztatják a fertőzött sejtek működését és szerkezetét.

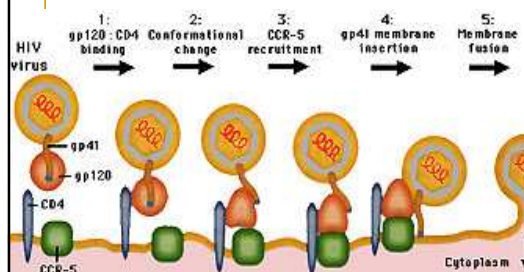
Vírusszaporodás szakaszai

- Adszorpció
- Penetráció
- Dekapszidáció
- Eklipszis
- Morfogenézis
- Kiszabadulás

Adszorpció

- A vírus-sejt kapcsolat első lépése
- Ionos kapcsolat (magnéziumionok)
- Vírusrészecskék és speciális sejtfelszíni receptorok közötti kapcsolat
- Antireceptor (virion, általában glikoprotein) – receptor (sejtfelszín)
- Fertőzés multiplicitása – sejtfelszínre adszorbeálódott vírusok

Adszorpció



Penetráció

- Vírusrészecske citoplazmába jutása
- Energiafüggő folyamat
- Végbemehet:
 - teljes vírus transzlokációja a plazmamembránon keresztül
 - a teljes vírusrészecske endocytosisa (citoplazma vesiculák)
 - virionburok fúziója a plazmamembránnal
- Burok nélküli vírusok első két módon
- Egyes külső burokkal rendelkező vírusok: viropexis útján
- Kellő számú vírussal történő fertőzés⇒sokmagvú óriássejtek keletkeznek

Dekapszidáció

- A sejtbe jutott vírusrészecskéből kiszabadul a nukleinsav
 - elveszítik a burkot vagy a kapszidot a sejtbe való bejutáskor
 - a kapszid eljut a nukleáris pórusokhoz, kiszabadul a DNS
 - a kapszid szoros kapcsolatban is maradhat a nukleinsavval

Eklipszis

- Sötét fázis (vírusszaporodás szintetikus szakasza)
- Dekapszidációtól az új vírusrészecskék megjelenéséig tart
- Vírusfehérjék szintézise a gazdasejt fehérjeszintetizáló rendszerével
- A vírusokra jellemző a genom sejten belüli szaporodásának helye
- a különböző vírusok génextpressziós stratégiája eltérő

Eklipszis szakaszai

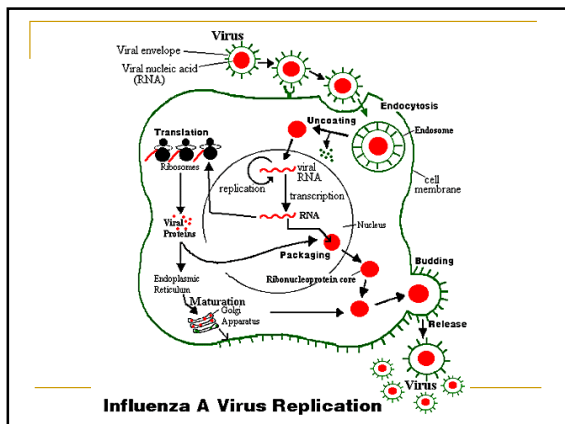
- mRNS transzkripció
- korai fehérjeszintézis (korai fehérjék – vírusspecifikusak, nem épülnek be)
- vírusnukleinsav replikációja
- mRNS transzkripció
- késői fehérjeszintézis (késői fehérjék – struktúrfehérjék, enzimek)

Morfogenezis

- Az újonnan szintetizálódott vírusgenomok és struktúrfehérjék komplett vírusrészecskévé épülnek össze
- Összeépülés, érés, kiszabadulás
- Az alkotórészek összeépülése érett, infektiiv virionná nem jó hatásfokú (pl. üres kapszid)

Kiszabadulás

- Fertőzött sejtek szétesése, fokozatos pusztulása, túlélés
- Kiszabadulás módja:
 - bimbózással
 - vesiculák
- a vírus érési ideje és a sejtől való kiszabadulás kezdete a fertőzéstől számítva általában eltérő a különböző vírusoknál és jellemző az egyes családokra.
- egy-egy fertőzött sejtben a körülményektől és a vírustól függően több ezer, több tízezer, esetleg százezres nagyságrendű új virion is képződhet, a virionná össze nem épülő, feleslegben termelt vírusalkatrészek mellett.



A vírusok tenyésztése

Élő, fogékony sejtek

- Sejt- és szövettenyészetek
 - Embriónt tojás
 - Laboratóriumi állatok

Sejt- és szövettenyészetek

- Emberi vagy állati szövetekből
- Normál vagy daganatos szövetből
- Embrióális vagy érett szövet
- **Primer tenyészetek**
 - Kontakt gátlás
 - Monolayer
- **Sejtvonalak**
 - Nincs kontakt gátlás
 - Növekedés szuszpenzióban is



Citopatogén hatás

- **A vírusok szaporodása következtében a fertőzött sejtekben kialakuló elváltozások**
 - **Morfológiai elváltozások**
 - Sejtízis, sejtnekrózis
 - Sejtek lekerekedése, leválása
 - Sokmagvú óriássejtek (syncytium)
 - Vakuolizáció
 - Zárványok
 - Citoplazmában
 - Magban
 - **Malignus transzformáció (sejtburjánzás)**
 - **egyes vírusok nem váltanak ki citopatogén hatást**

Embrionált tojás

- Figyelembe venni a vírus speciális igényeit
- Előkeltes (5-14 napos embrió)
- Beoltás módja (aszéptikus körülmények)
 - Amnionüreg
 - Allantoisüreg
 - Chorioallantois hártya
 - Szikhólyag
- Tojás minősége (nem tartalmazhat vírusokat, baktériumokat)
- Vírusfertőzés hatására
 - Embrió elpusztul
 - Jellegzetes elváltozások



Laboratóriumi állatok

- Speciális célok (oltóanyag kipróbálása, antivirális szerek hatékonyságának kipróbálása)
- Vírus gazdaspecificitása
- Nemcsak az állat faja, hanem a kora is fontos
- Szervspecificitás: beoltás módjai
- Jellegetes tünetek, kóros elváltozások

