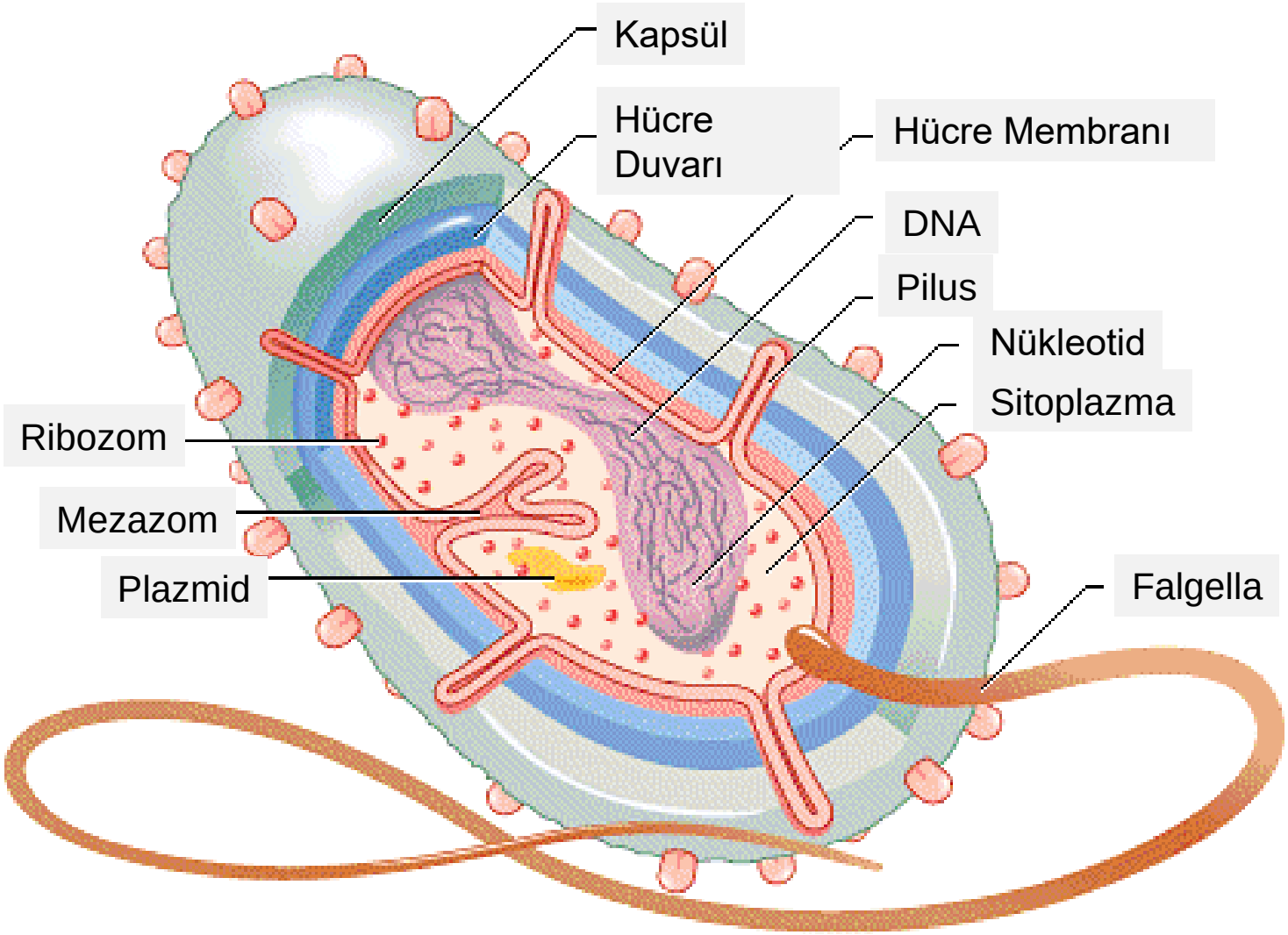
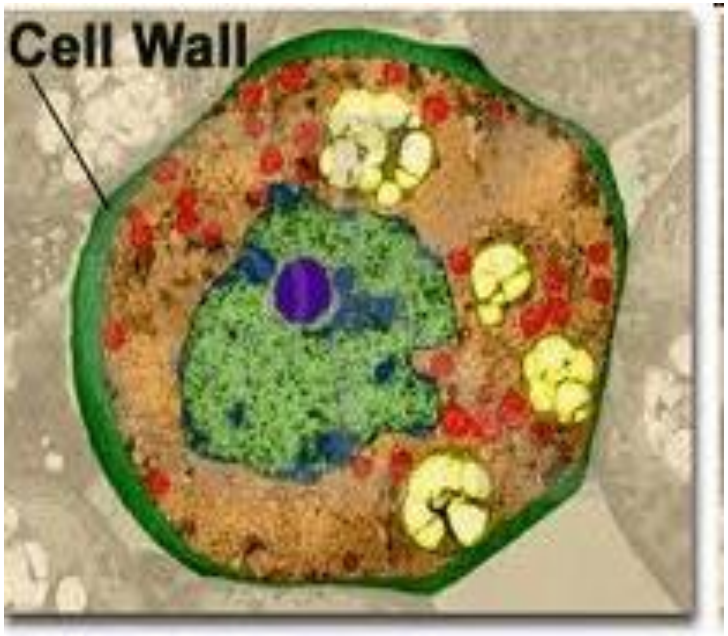
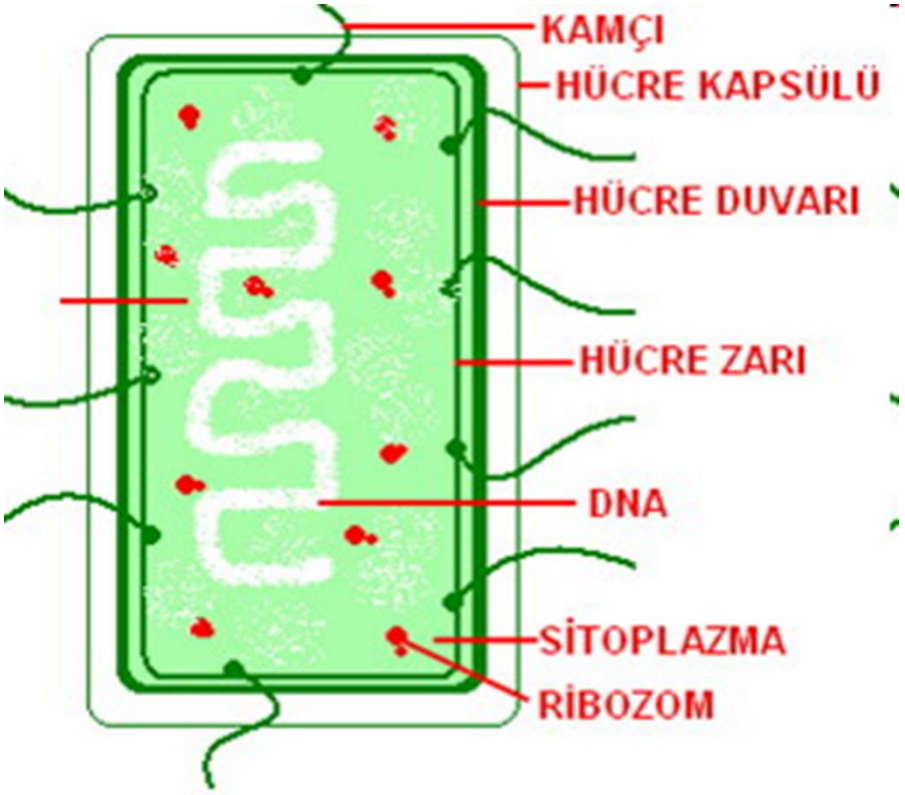
Bakteri hücresinin yapısı

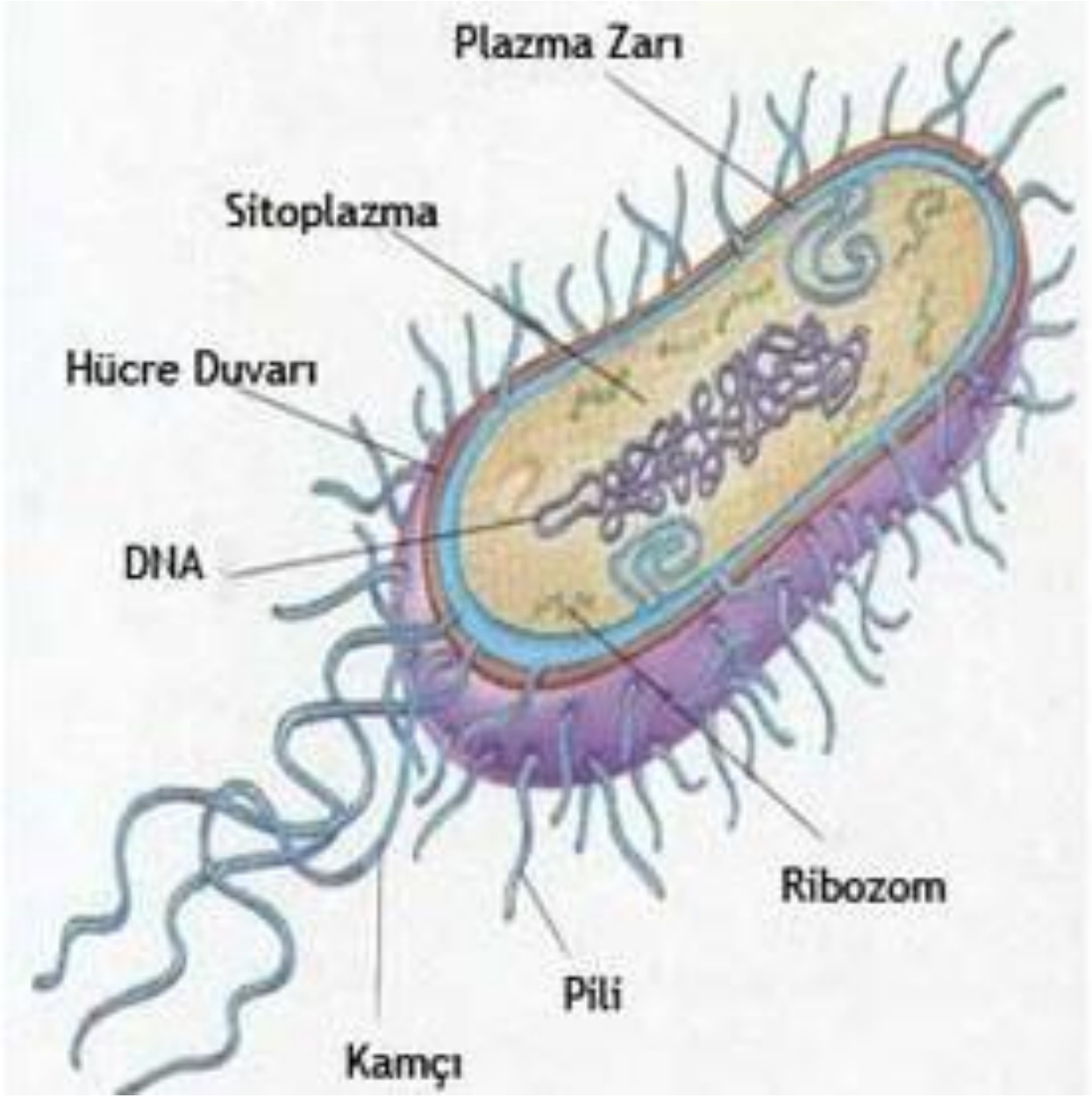


Hücre Duvarı

Mycoplasma ve Ureaplasma cinsi bakteriler dışındaki tüm prokaryot hücrelerde bulunan ve sitoplazma zarını çevreleyen zardır.






Plazma Zarı
Sitoplazma
Hücre Duvarı
DNA
Ribozom
Pili
Kamçı

* Hücre duvarı bakteriyi kendi iç basıncına karşı korur ve ona özgül şeklini verir.

(Bir bakteri hücresinde iç osmotik basınç %10-20 sakkoroz yoğunluğuna kadar ulaşır. Hücre duvarının bulunmaması durumunda bu basınç hücreyi parçalar)

Bakteri hücre duvarının sertliğini peptidoglikan adı verilen madde sağlar

Peptidoglikan= Mürein=Mükopeptit

Peptidoglikan terimi

peptid (amino asit) ve glikan (şeker= karbonhidrat) kelimelerinden türemiştir.

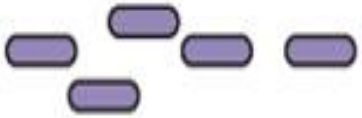
Amino asit ve şekerlerden (N-asetilglukozamin ve N-asetil müramik asit) oluşan büyük bir moleküldür.

Tekrarlayan N-asetil glukozamin (NAGA) ve N-asetil muramik asit (NAMA) alt birimlerinden oluşur.

Bakterilerde hücre duvarı yapısı farklılık göstermektedir.

Bu farklılık Gram boyama yöntemi ile ortaya konulmakta ve bakterilerin büyük bir çoğunluğu Gram boyama yöntemi ile **Gram pozitif** yada **Gram negatif** olarak boyanmaktadır

* Bu fark bakterileri **"Gram pozitif"** yada **"Gram negatif"** diye iki gruba ayırarak incelememizi sağlar.

Gram-Positive		Gram-Negative
Staphylococcus aureus		*Escherichia coli*
Kristal moru (Kristal viyole)		
Lugol eriyiği (mordan olarak)		
Alkol (%96'lık etil alkol)		
Safranin		

Gram pozitif hücre duvarı

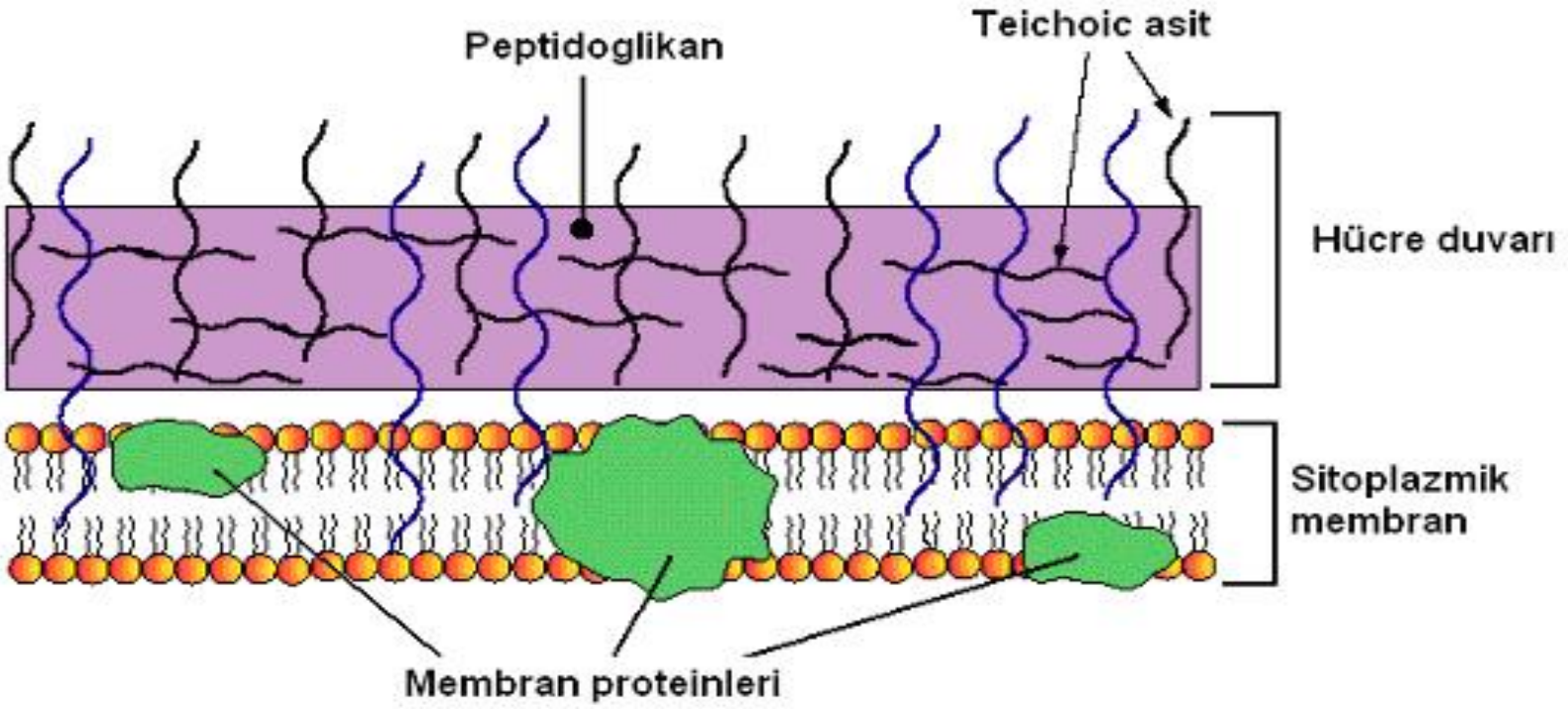
Gram pozitif hücrelerde daha kalın olmak üzere, 10-20 nm kalınlığında sert ve gözeneklidir.

Hücre duvarının % 50-90 ı peptidoglikandan oluşur

Peptidoglikan yapının dışında,

peptidoglikana ya da sitoplazma zarına bağlanmış teikoik asit ve lipoteikoik asitler,

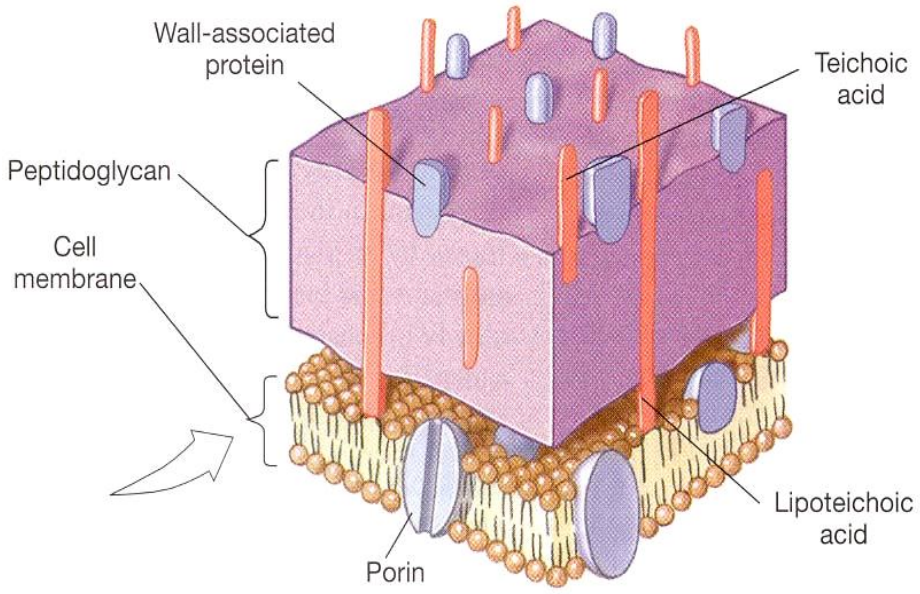
Gram pozitif hücre duvarının en dışında ise yüzey proteinleri yer alır.



Teikoik asit; suda eriyebilen, fosfodiester bağlarıyla bağlanarak uzun zincirler oluşturan şeker-alkol-fosfat polimeridirler.

teikoik asit ve diğer hücre duvarı proteinleri Gram pozitif bakterilerin en önemli yüzey antijenleridir

Gram pozitif hücre duvarı



Hücre duvarı proteinler gibi büyük molekülleri geçirmemesine karşın, pürinler, pirimidinler, disakkaritler, peptidler ve amino asitler gibi küçük moleküllere geçirgendir.

Gram pozitif bakteri hücre duvarında bulunan porlar diffüzyon ile madde geçişine izin verir.

Gram negatif hücre duvarı

Gram negatif bakteri hücre duvarı daha komplex yapılıdır.

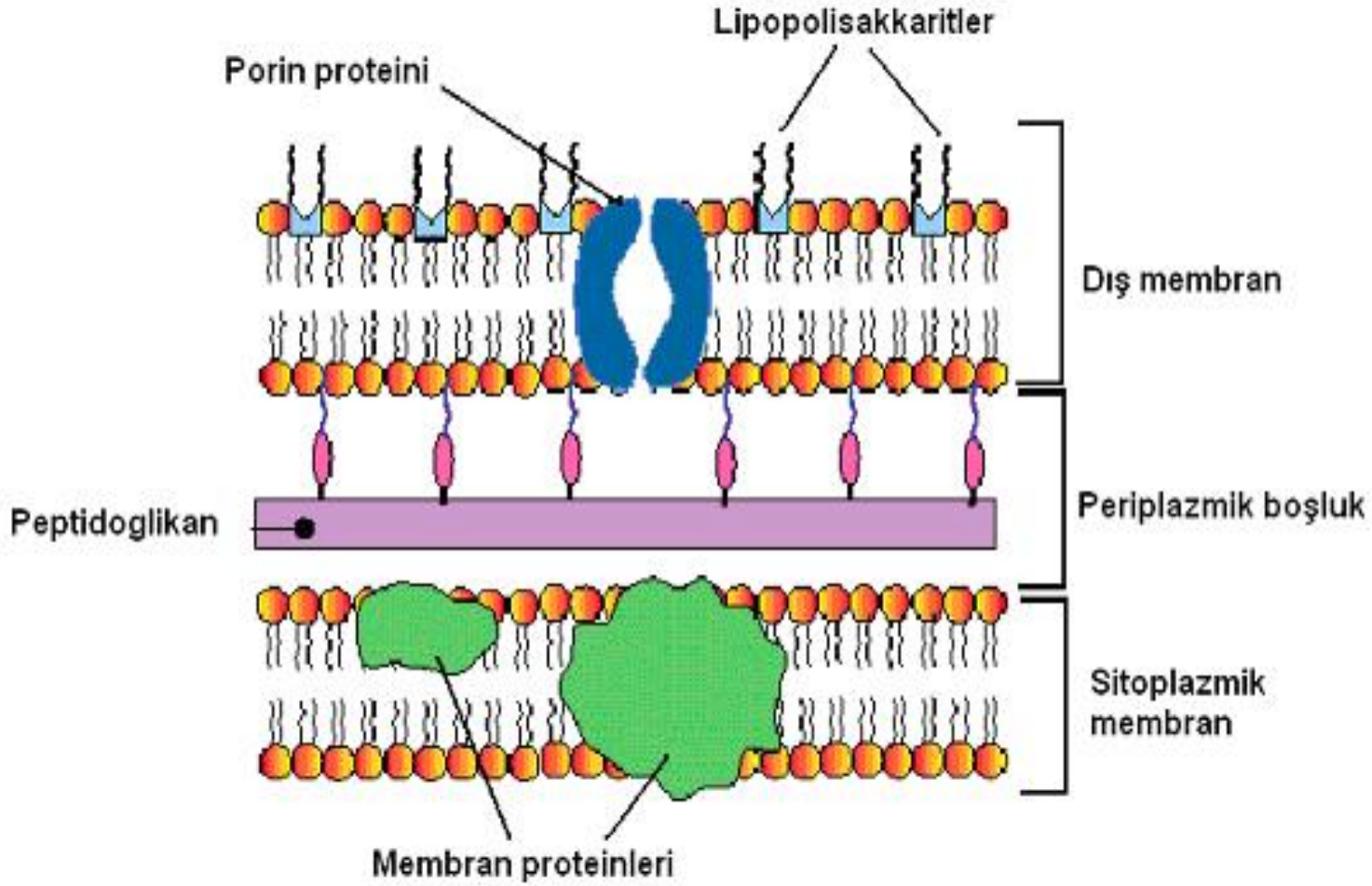
* Çok ince bir peptidoglikan tabakası (hücre duvarının %5-10)
* Lipoprotein tabaka

  periplazmik aralık (bazı enzimlerin işlev gördüğü boşluklar)
* Dış membran(zar): çift katlı fosfolipit içerir.

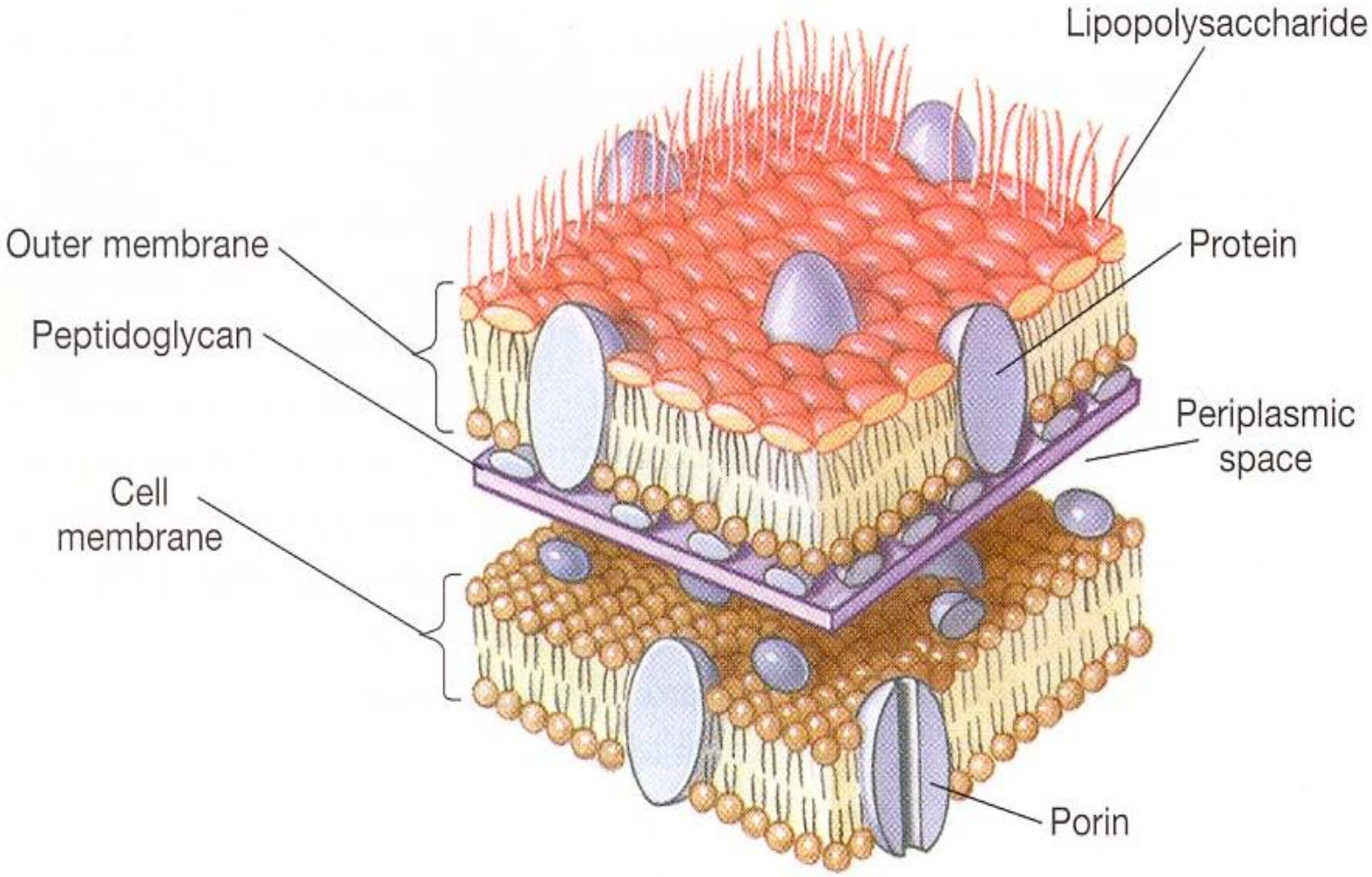
  Bu zar bakteriyi antipeptidoglikan özellikli maddelere (Örn; lizozim) karşı korur.
* Lipopolisakkarit tabaka

  polisakkarit

  lipit A


Lipopolisakkaritler
Porin proteini
Dış membran
Periplazmik boşluk
Peptidoglikan
Sitoplazmik membran
Membran proteinleri

Gram negatif hücre duvarı



Lipopolisakkarit tabaka tıbbi açıdan önemlidir.

Polisakkaritler: Gram negatif bakterilerin başlıca yüzey antijenleridir. Bu antijene O antijeni (vücut antijeni) adı verilir. Türe özeldir.

Lipit A: Gram negatif bakteri hücresinin endotoksinidir.

Bakteri hücresi insan vücudunda parçalanıp lipit A serbest kaldığında memeli hücresi için toksik etki gösterir.

Fizyolojik etkileri:

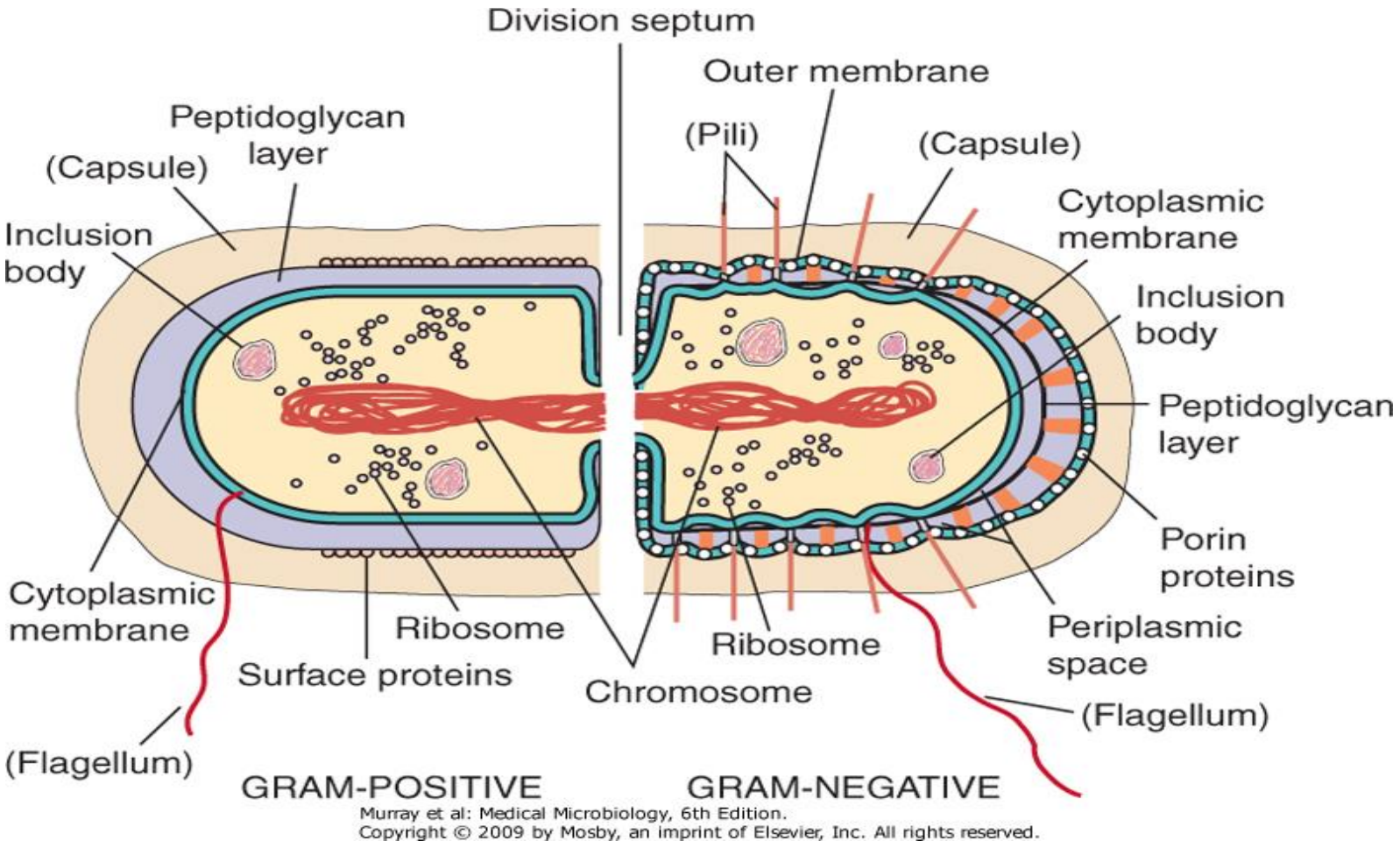
- Ateş, Diyare, kan damarlarında sızıntı- tumor nekrozu, kan basıncında düşme ve şok
- Endotoksin yüksek konsantrasyonlarda öldürücüdür

Mycobacterium cinsinden bakterilerin hücre duvarında da peptidoglikan vardır.

Ancak yapısı diğer bakterilerden farklıdır. Peptidoglikan örgüsü içine bir arabinogalaktan polimeri girmiştir ve mikolik asit, kord faktör, wax D ve sülfolipitlerden oluşan balmumu benzeri lipit yapısında bir tabaka ile çevrilmiştir.

Bu özellik nedeni ile *Mycobacterium* cinsi bakteriler Gram yöntemi ile boyanamaz.

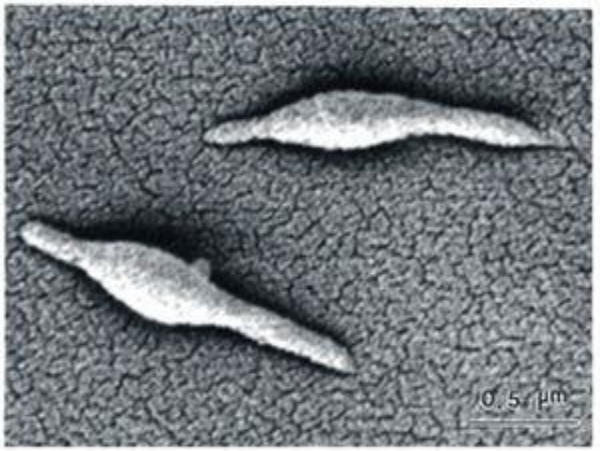
Bakterilerde Hücre Duvarı Farklılıkları



Murray et al: Medical Microbiology, 6th Edition.
Copyright © 2009 by Mosby, an imprint of Elsevier, Inc. All rights reserved.

- Bakterilerin çoğunda hücre duvarı olmasına rağmen bazı bakteri hücreleri hücre duvarına sahip değildir.
- *Mycoplasma* türleri bunlara örnektir, zorunlu hücre içi parazitleridir. Çok veya az tuzlu ortamlarda hemen ölürler, hücre içinde yaşama zorunlulukları vardır. Hücre zarlarında sterol bulunması dayanıklılığını sağlar. *Mycoplasma'lar* pleomorfik'dirler

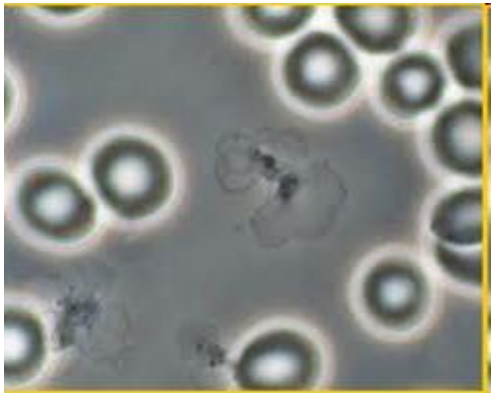
M. pneumoniae



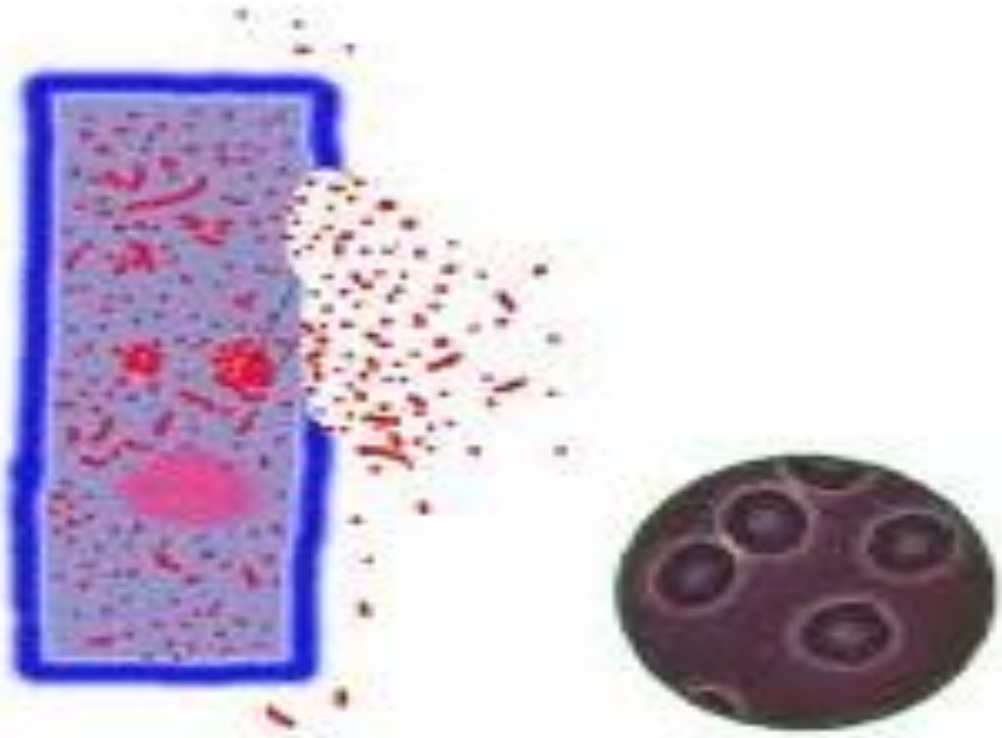
Bakterilerin hücre duvarını kaybetmesi

* Bazı bakteriler beslenme koşulları, penisilin veya lizozim etkisi ile değişikliğe uğrayarak hücre duvarsız şekiller "L form" haline dönebilirler.





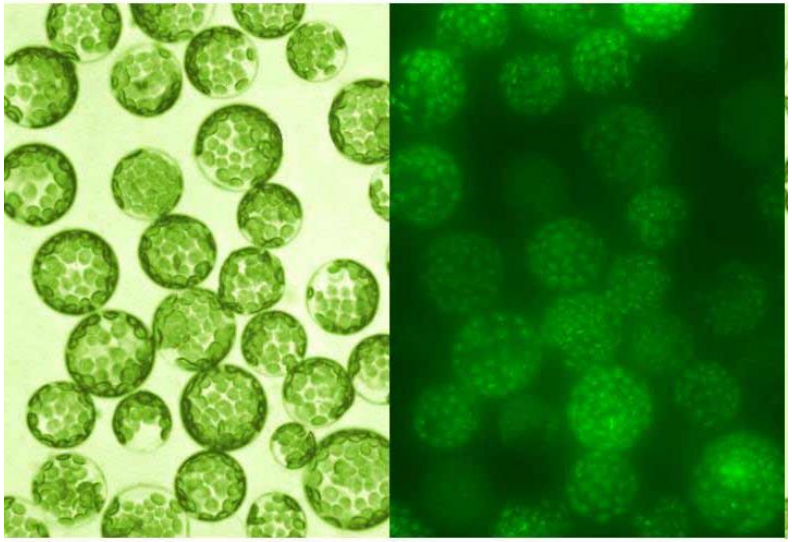
- Bu fenomen hem Gram pozitif hem de Gram negatif türlerde görülebilir. Hücre duvarı kısmen ya da tamamen kaybolmuştur. L formları çok şekilli olup, ozmotik şoka duyarlıdırlar



Çeşitli nedenlerle hücre çeperi kalkacak olursa bakteriler parçalanarak ölür. Ancak uygun ortamlarda protoplast, sferoplast şeklinde yaşamlarını sürdürürler ve bu formlara bakterilerin L formu denir.

Bakterilerin hücre duvarını kaybetmesi

- Bazı bakteriler hücre duvarındaki peptidoglikana etkili lizozim gibi bir enzimle muamele edilince hücre duvarı parçalanır.
  - Hücre duvarı olmayan sitoplazma zarı ile kalan bu şekle **protoplast** denir.





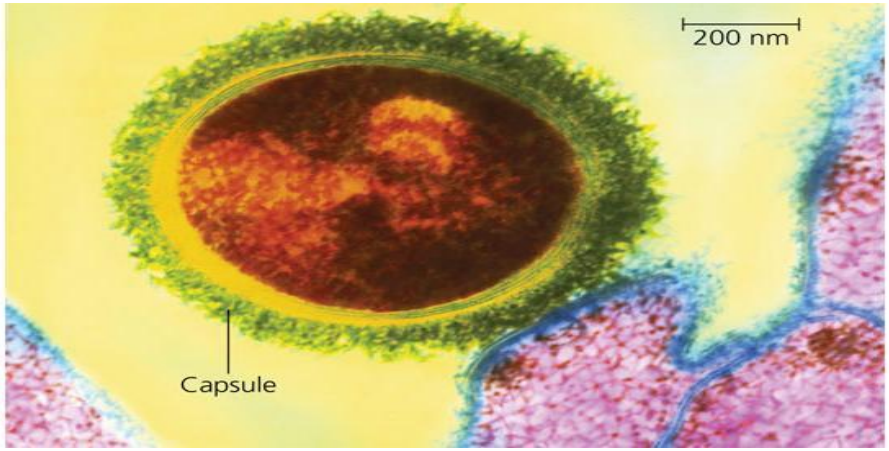
- Gram negatif bakterilerden elde edilen protoplastın hücre duvarındaki lipopolisakkarit ve lipoproteinin büyük kısmı bozulmadan kalır.
  - Tamamen bozulmayan sadece hücre duvarı zarar görmüş yapıya **sferoplast** denir.

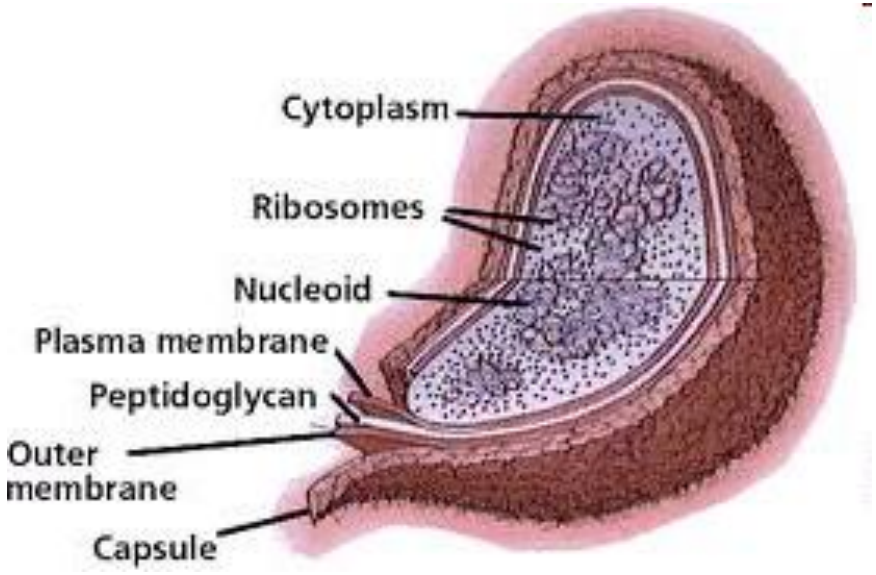
Kapsül

- Glikokaliks, bazı bakteri hücrelerinde hücre duvarını çevreleyen vizköz bir maddedir.

  Glikokaliks hücre duvarına sıkıca yapışmış,0.2-10µm kalınlığında ve sınırları belirli bir yapıda ise kapsül,

  Glikokaliks hücre duvarına gevşek olarak tutunmuş, kesin bir yapıda ise biyofilm (slime) olarak adlandırılır.





Kapsül,

%95-98'i su olan bir kılıf yapısıdır.

* Bazı bakterilerde bulunur.
* Genellikle polisakkarit (Streptococcus pneumoniae)
  Bacillus anthracis'in kapsülü ise polipeptittir.
* Bakteri hücresinin varlığı için gerekli bir yapı değildir.
* Mutasyonla spontan olarak ortadan kalktığında bakteri canlılığını sürdürür.
* Bakterinin fagositozunu engeller. Bakteri kapsülünü kaybettiğinde avirulan olur ve kolayca fagosite edilir.

Kapsül

Slime tabaka oluşturan bakteriler, bu madde ile dokuların yüzeyine birbirlerine tutunarak (aderans) mikrokoloniler oluştururlar.

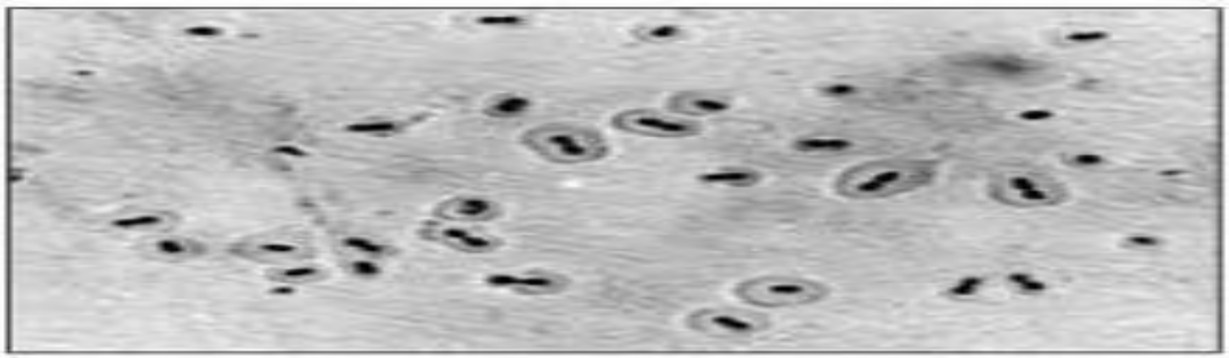
Bu bakteri grupları sindirilemeyecek kadar büyük olduğundan fagosite edilemezler (bu bakterinin virulansını arttıran bir faktördür).

Kapsül

Kapsül varlığını belirlemek için çini mürekkebi ile hazırlanan negatif preparatta **(negatif boyama)** kapsül boşluğu belirlenebilir.

Ayrıca kapsüle karşı hazırlanan bağışık serumlarla **kapsül şişme** deneyi yapılabilir.

Kapsüllü bakteri kendisine özgül bağışık serum ile karşılaştığında, kapsül antijeninin antikoru ile birleşmesi sonucunda kapsül genişler ve şişmiş gibi görülür bu olaya kapsül şişme reaksiyonu adı verilir



Resim 3. Quellung (kapsül şişme) reaksiyonu (http://textbookofbacteriology.net/S.pneumoniae. html).

- Kapsüllü bakteriler katı besiyerinde M tipi koloni, mikrokapsüllüler S tipi, kapsülünü yitirmiş olanlar ise S ya da R tipi koloni yaparlar.



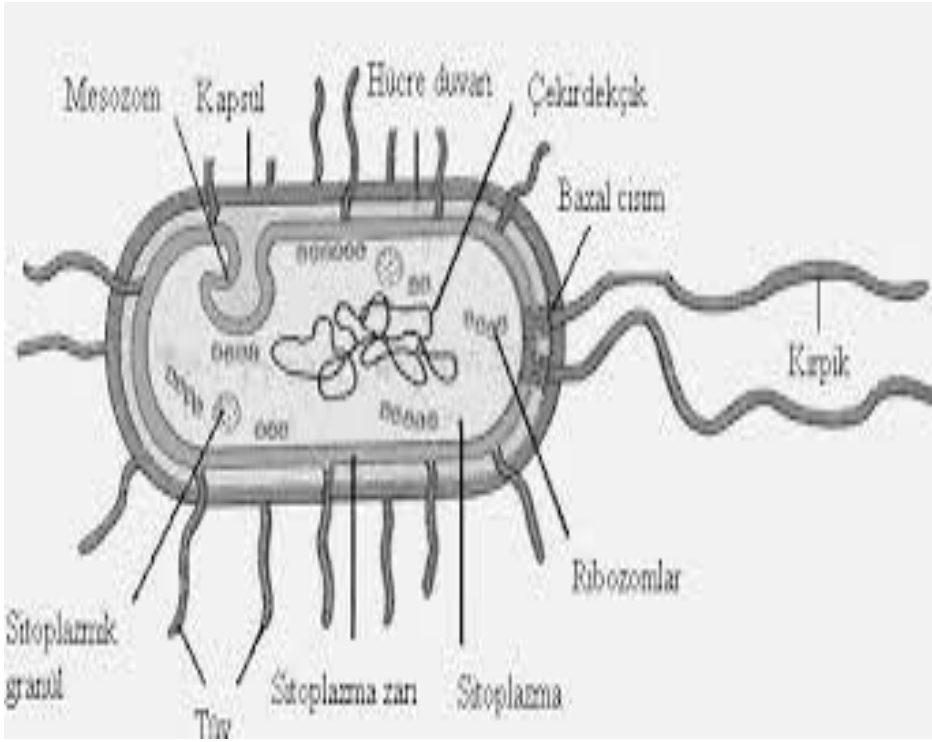


Kirpik (Flagella)

Birçok bakteri cinsinde bulunan, hareketi sağlayan protein yapıda uzantılardır

* Daha çomak şeklindeki bakterilerde ve bazı sarmal şekilli bakterilerde bulunur. Kok şeklindeki bakteriler kirpiksiz oldukları için hareketsizdir.

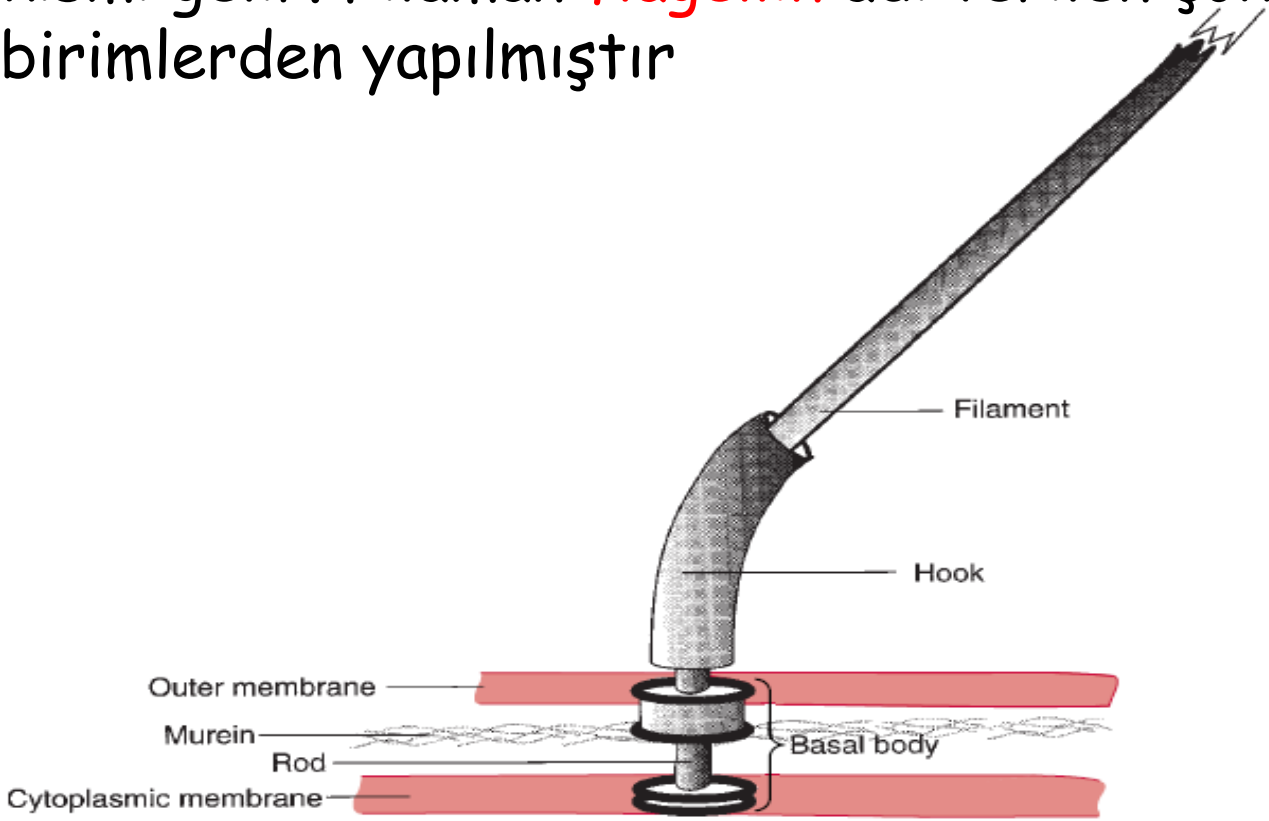




Bakteri kirpiğinin boyu 15-20 μm, eni ise 0.01-0.03 μm dir.

* Kirpiklerin rotasyonel hareketi sonucu bakteri saniyede 50-100 μm ilerler. Ortalama olarak dakikada kendi uzunluğunun 3000 katı uzaklığa gidebilir

Kirpik sitoplazmadaki bazal cisimden kökenlenir. Bazal cisim Gram negatiflerde iki çift diskten oluşur. İçte bulunan disk çifti kirpiğin sitoplazma zarına tutunmasını sağlar. İkinci disk çifti hücre duvarına tutunmasını sağlar. Hücreden ilk çıkışta kirpik dirsek oluşturur.Bu kısma çengel denir ve kirpikten daha kalındır.Daha sonra filaman kısmı gelir. Filaman flagellin adı verilen çok ince protein birimlerden yapılmıştır



Bakteriler ; Kirpiklerin konumuna göre

Atrichous: Kirpiksiz (Örn; *Shigella*)

Monotrichous: Bir ucunda tek kirpiği olan (Örn; *V.cholerae*)

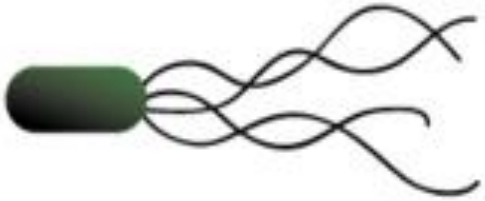
Lophotrichous: Bir veya iki ucunda püskül tarzında kirpikleri olan (Örn; *Stenotrophomonas maltophilia*)

Amphitrichous: Her iki ucunda birer kirpik bulunan bakteri (Örn; bazı *Vibrio* türleri)

Peritrichous: Tüm hücre yüzeyinde çok sayıda kirpik taşıyan bakteri (Örn; *Salmonella, proteus cinsleri*)



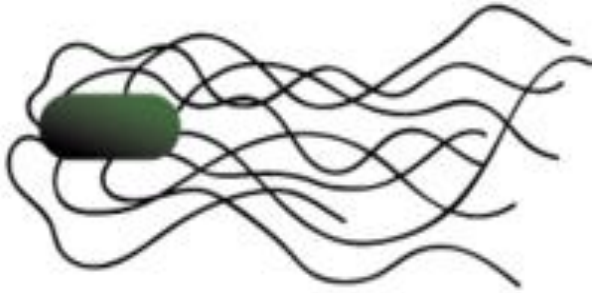
Monotrichous



Lophotrichous



Amphitrichous



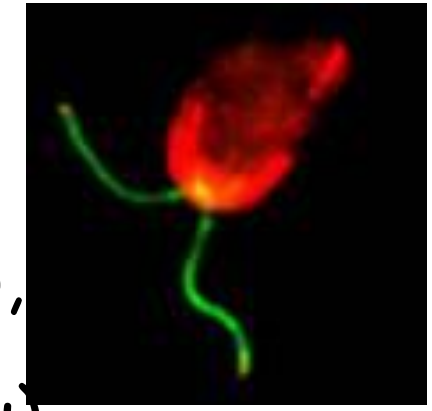
Peritrichous

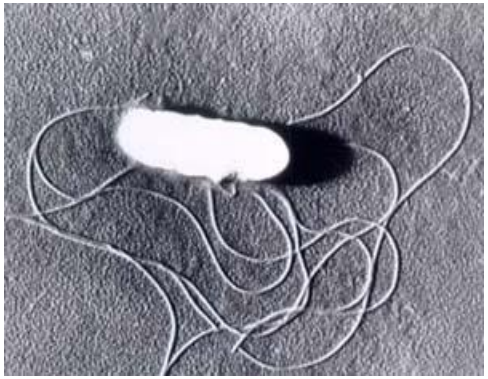
Flagella varlığının tespiti

- Boyalarla (bazik fuksin, pararosaline)
- Floresanlanmış veya boyalarla işaretli flagellin'e özgül antikorlarla muamele ederek
- Elektron mikroskopi

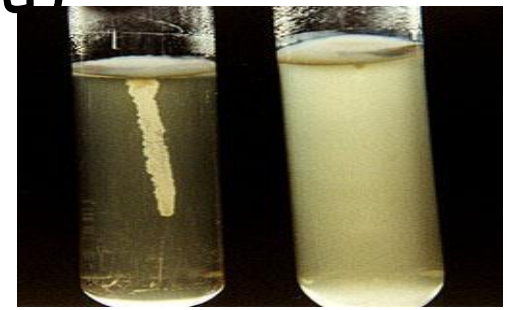
. Mikroskop

(Faz-kontrast mikroskop, karanlık alan mikroskopu)



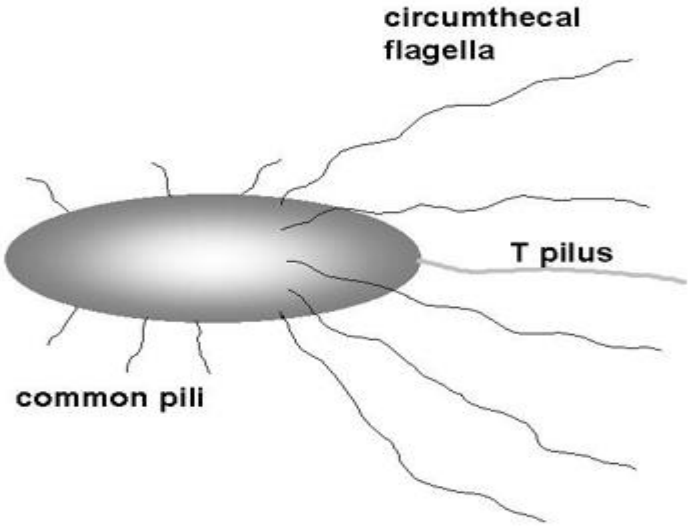


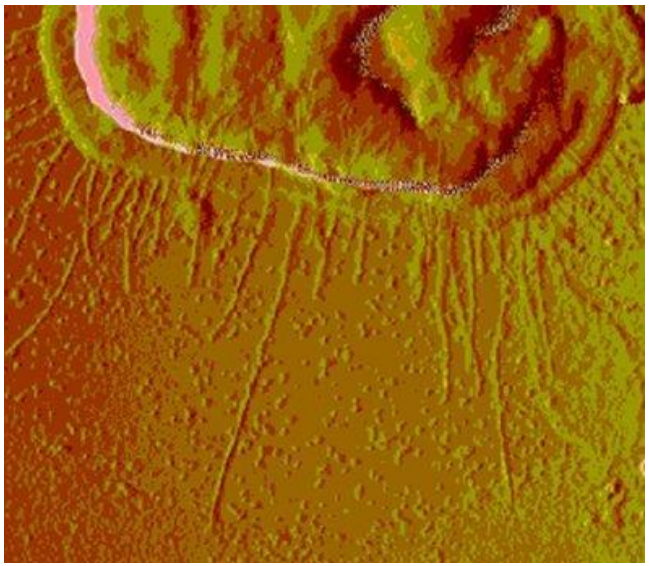
- Hareket besiyeri ile



Pilus (Fimbria)

- *Prokaryotik hücrelerin yüzeyinde kısa, saç gibi protein yapılardır*
- Flagelladan daha kısa ve incedir. Yalnızca elektron mikroskobunda görülebilirler
- Bakteri hareketi ile ilgileri yoktur.





Pilus

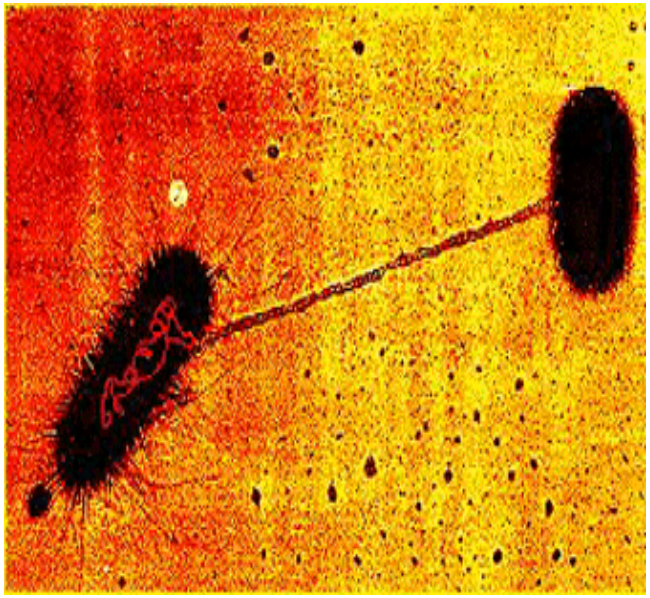
* Basit pilus (bir hücrede 100-200)

  Prokaryotların yüzeylere tutunmasını yapışmasını sağlar (adherens, adhesion) Böylece bakteriyel virulansta rol oynar.

* Seks pilus (bir hücrede 1-4)

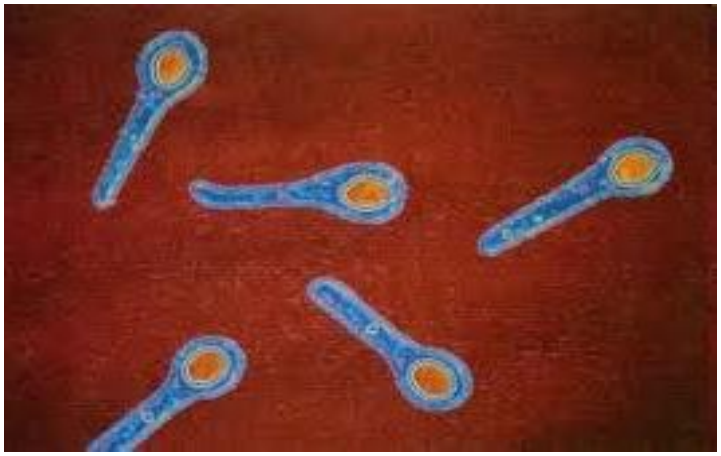
  F pilus da denir.

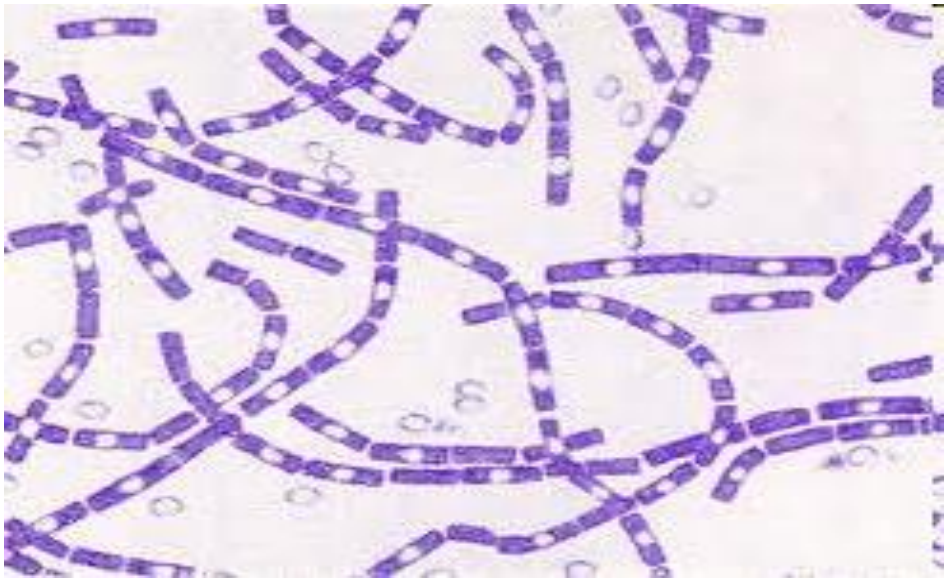
  DNA 'nın eşleşen bakteriler arasında gen transferini sağlar



Spor

Spor bakterilerin canlı fakat uykuda olan halidir.

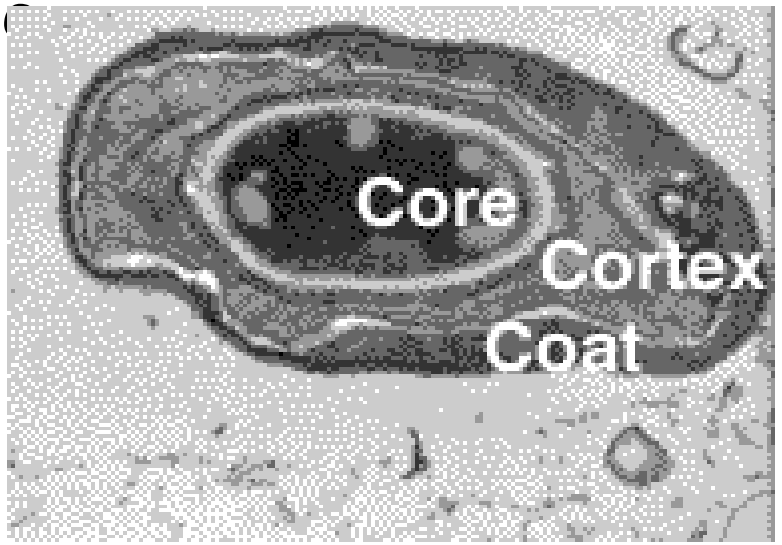






Spor protoplastı

Kor ya da nükleus çevresinde



içten dışa doğru

* Spor zarı,
* Korteks (kabuk),
* Spor mantosu (kılıf) ve
* Ekzosporium

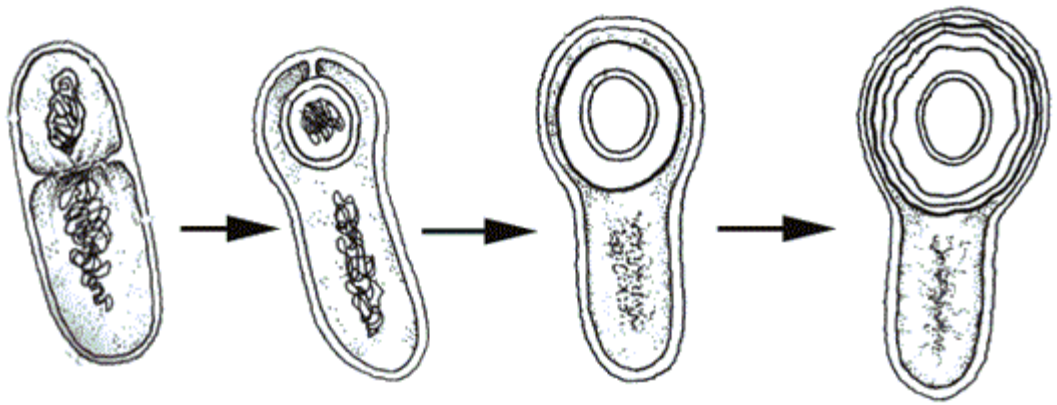
adı verilen dört ayrı tabaka gelişir.

Bunlar geçirgen olmadıklarından spor protoplastı toksik maddelerden ve diğer zararlı etmenlerden korunmuş olur.

- Sporlar, ısı kuruluk, ultraviyole ışınları, dezenfektan gibi kimyasal maddelere vegetatif şekilden daha dayanıklıdırlar. Bakteri spor şekline dönüşerek kendisi için olumsuz koşullardan korunur.

Bir vegetatif hücreden spor oluşumuna sporulasyon denmektedir.

Sporulasyon, bakterinin içinde bulunduğu ortamda bulunan besinlerin tükenmesi ile başlar ve 6-8 saat içinde tamamlanır

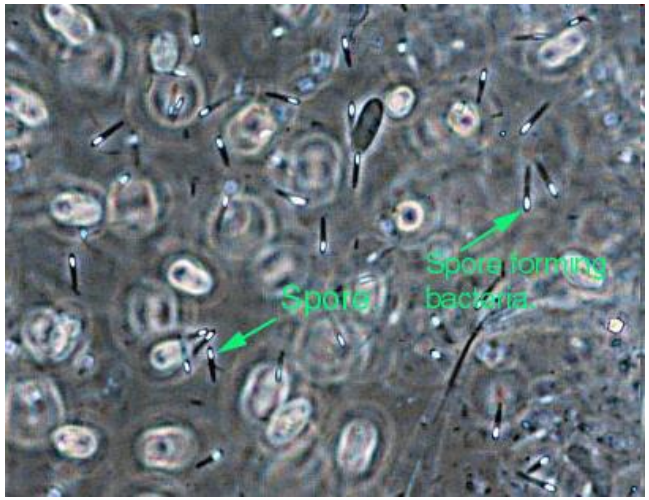


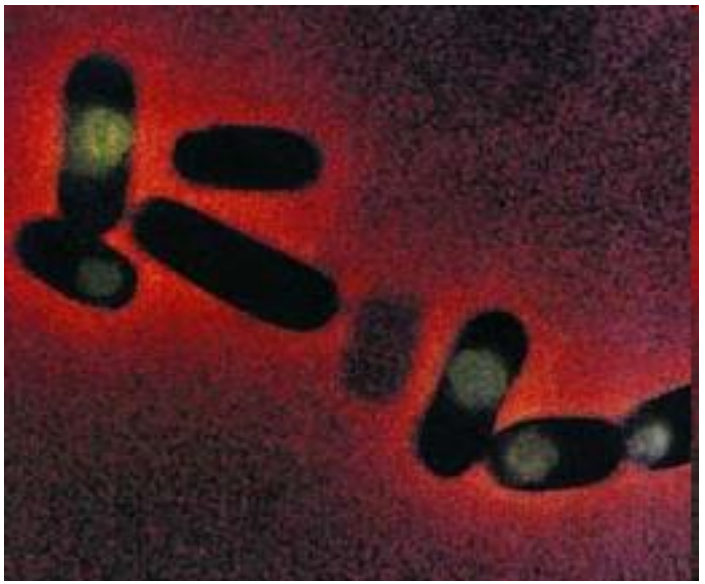
- Sporulasyon esnasında hücre suyunun büyük bölümünü kaybeder (%5-10 su içerir). Su oranının az olması sporun yüksek sıcaklığa dirençli olmasını sağlar.
- Uygun şartlar oluştuğunda spordan vegetatif hücre oluşumuna germinasyon adı verilir

Germinasyon uygun şartlar geliştiğinde sporun en dış katmanının bozulması ile başlar, bu esnada spor su alarak şişer, dış katmanlar parçalanır ve vegetatif hücre dışarı çıkar. Süreç 90 dakikada tamamlanır.

Spor

- Bir spordan tek vegetatif hücre meydana geldiğinden spor bir üreme elemanı değildir. Sadece bakterinin neslini sürdürmesinde rolü vardır.

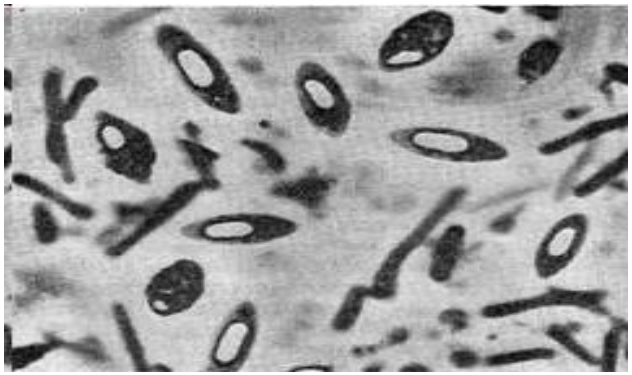




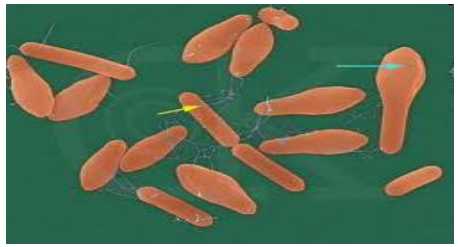
Spor

- Sporlar basit ya da Gram boyama yöntemi ile boyanmaz; özel boyama yöntemleri (Örn; Ehrlich Ziehl-Neelsen) ile boyanır.
- Sporun ana hücredeki yeri ve morfolojisi türe özeldir

Spor sentral (ortada)
Terminal (bir uçta)
Subterminal (bir uca yakın)
Oval ya da küresel şekilli olabilir

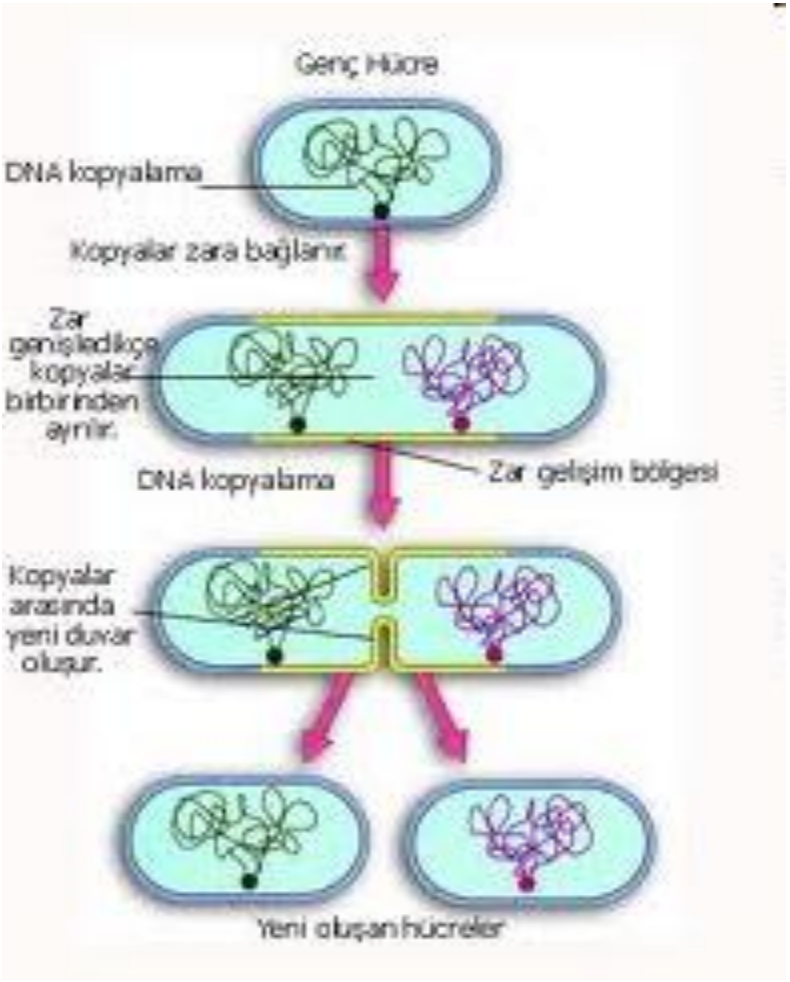


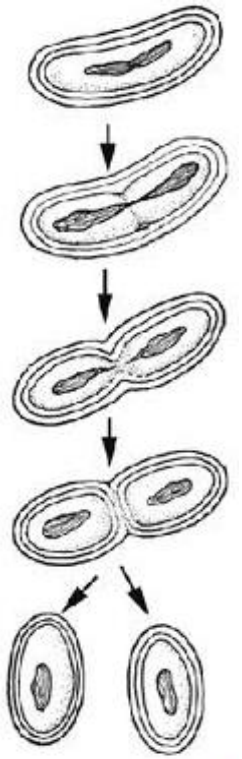
- *Clostridium tetani sporları küresel ve terminal*
- *Bacillus anthracis in sporları oval ve sentral konumludur*



Bakterilerin Üremesi

Bakteriler genel olarak ikiye bölünerek çoğalırlar.





* Üreme sırasında bakterilerin bölünme hızı bakteri türüne ve üreme ortamı ile çevre koşullarına bağlıdır.

Bölünme hızı; Bir hücreden iki hücre oluşması için geçen süreyi ifade etmektedir.

Optimal şartlarda bölünme hızı sabittir.
Hücrelerin çoğalması geometrik artış gösterir.

Örn; *E.coli* nin bölünme süresi 20 dakika

M.tuberculosis in ise 14-15 saattir.

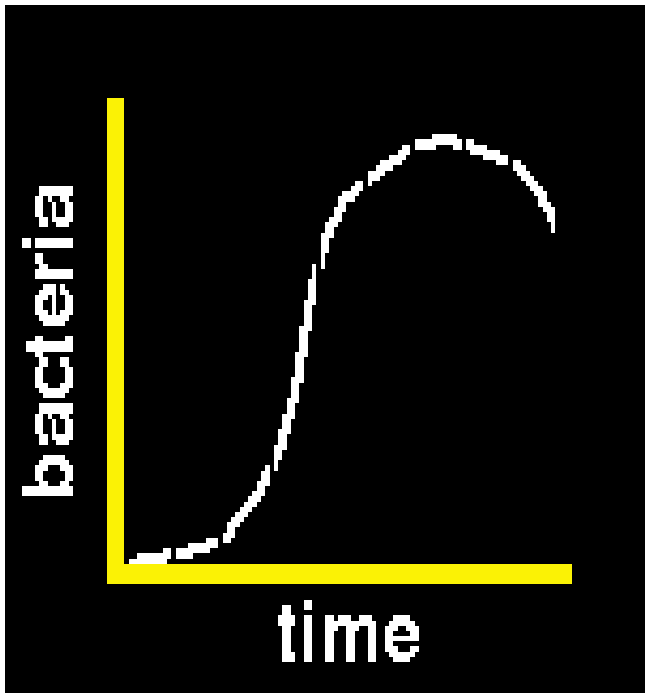
Üreme dönemlerinin saptanması

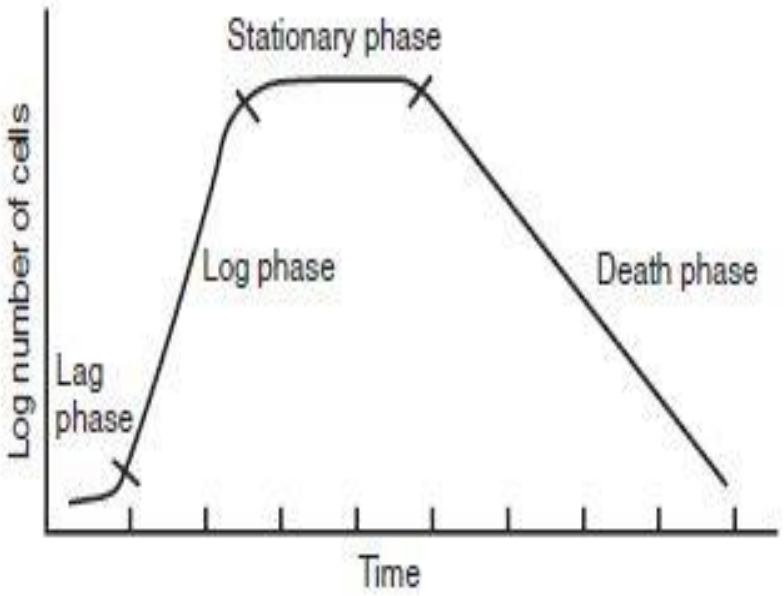
Uygun sıvı bir besiyerine belirli sayıda bakteri ekilerek inkübasyona bırakıldığında ve düzenli aralıklarla bu besiyerinden örnekler alınarak incelendiğinde

* Bakterilerin düzenli olarak üremedikleri ve üremenin zamana bağlı olarak çeşitli dönemlerinin bulunduğu saptanmıştır.

  Bu dönemler

  - Gizli dönem
  - Logaritmik üreme dönemi
  - Çoğalmanın durma dönemi
  - Logaritmik azalma (Ölüm)dönemi


bacteria
time


Stationary phase
Log number of cells
Log phase
Death phase
Lag
phase
Time

Latent dönem: Gizli dönem (Lag phase)

Bakteri sayısında artmanın olmadığı, hatta azalmanın olduğu bakterilerin ortama alışma dönemidir

Logaritmik üreme dönemi (Exponential phase)

Bakteriler gittikçe artan bir hızda çoğalırlar

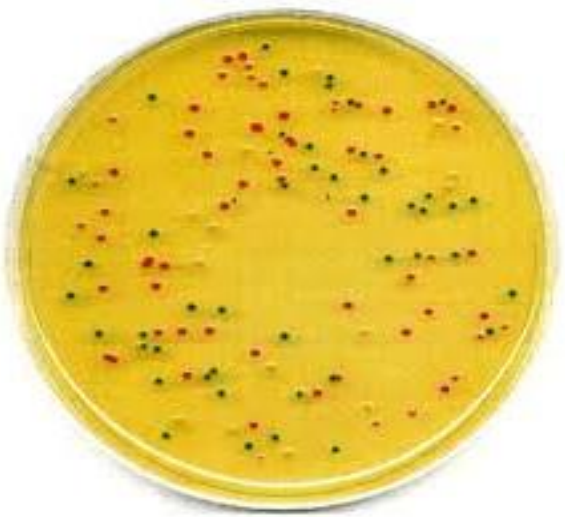
Çoğalmanın durma dönemi (Stationary phase)

Hücrelerin bölünmesi durmaz, fakat bölünen hücrelerin yanında ölen hücrelerde bulunduğundan canlı hücre sayısı sabit kalır

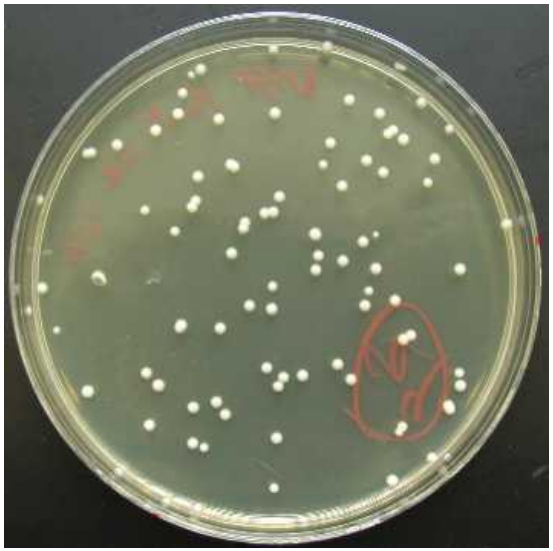
Logaritmik azalma (Ölüm)dönemi

Ortam koşullarının uygunsuz olması nedeni ile bakteriler hızla ölmeye başlar, sayılarında logaritmik bir azalma görülür.

- Bakterilerin laboratuvarda tüpte veya petri kutularında hazırlanmış olan besiyerlerinde çoğalmasına **in vitro** üreme,
- Deney hayvanı veya canlı dokularda çoğalmasına **in vivo** üreme denir.







Mikroorganizmaların üremelerinin ölçülmesinde kullanılan yöntemler

* Mikroskobik sayım
* Elektronik hücre sayımı
* Petri kutusunda sayım
* Membran filtre
* Spektrofotometrik
* Azot içeriği
* Kuru ağırlık
* Kolorimetrik
* Metabolik aktivite