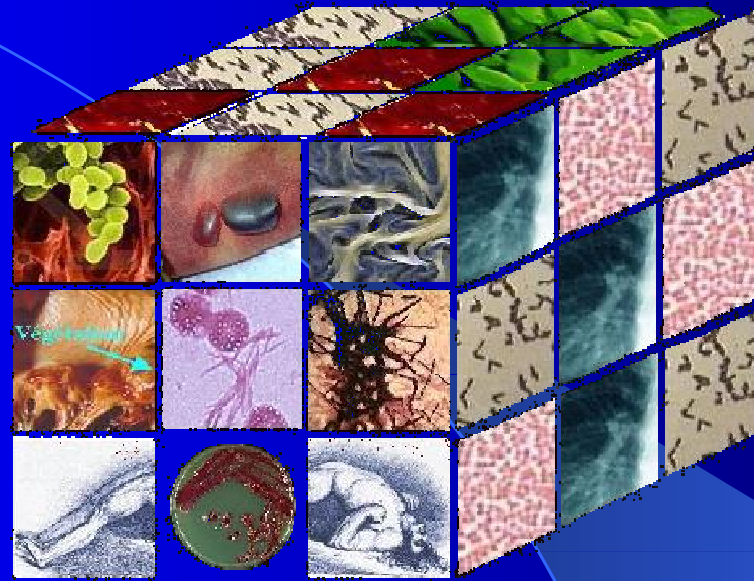


Přehled mikrobů. Patogenita a virulence



Mikrobiologie a imunologie – BSKM021p + c

Týden 1

Ondřej Zahradníček

Abych se představil

- MUDr. Ondřej Zahradníček
- povolání: **klinický mikrobiolog**, asistent na LF MU; učíme u nás bakalářské obory, mediky, zubaře i studenty přírodovědecké fakulty
- budu s vámi mít celý semestr dvouhodinové bloky, formálně se skládající z přednášky a cvičení, **reálně to bude přednáška či seminář**, budu se ale snažit nosit buď letáky, nebo přímo ukázky věcí z naší laboratoře
- **zájemci se u mne mohou přihlásit a mohou se přijít podívat přímo k nám**

Náš
ústav



Foto: Archiv MU

Výuka

Provoz
(analýza
klinických
vzorků)

Výzkum

V naší praktikárně



Foto: Archiv MU

Klinická mikrobiologie

Molekulární
biologie a
genetika

Mikrobiologie
rostlin

Infekční
lékařství

Obecná
mikrobiologie

**Humánní
klinická
mikrobiologie**

Epidemiologie
infekčních
nemocí

Buněčná
biologie

Veterinární
klinická
mikrobiologie

Dermato-
venerologie

Klinická mikrobiologie a imunologie

- Klinická mikrobiologie se jako samostatný obor odštěpila začátkem 20. století z **patologie**. Do té doby se diagnostikou mikrobiálních původců ve vzorcích pacientů zabývali patologové
- O více než půlstoletí později se z mikrobiologie vyčlenila **imunologie**, tedy věda o obranyschopnosti organismu. Dnes už existují samostatné imunologické ústavy a laboratoře, medici mají samostatnou zkoušku z imunologie. Klinická imunologie je však zároveň i součástí interny, případně pediatrie.

Kdo jsou mikrobiologové

Základní mikrobiologický výzkum

Průmyslová
mikrobiologie

Klinická
mikrobiologie

Jiné
medicínské
obory

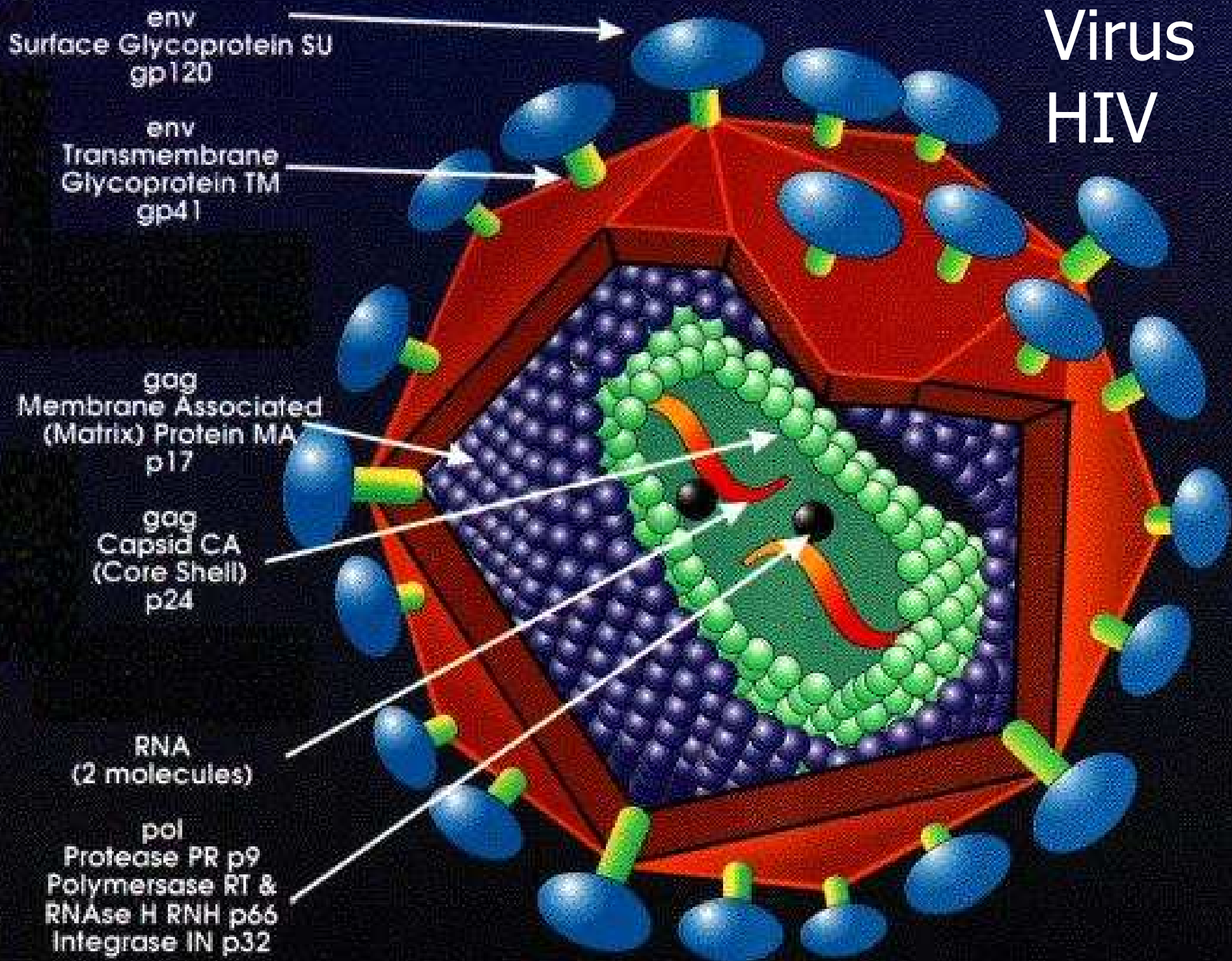
Chemicko-
technologic.
školy

Přírodovědecké
a podobné
fakulty

Lékařské
fakulty

Na našem ústavu jsou lékaři a další odborníci.

Virus HIV



Co nás čeká v tomto předmětu

- Povídání o **klinicky významných mikrobech** a jejich vlastnostech
- Povídání o **určování mikrobů** a vůbec o práci v laboratoři klinické mikrobiologie
- Krátké představení **lidské imunity a imunologie** jako takové
- A hlavně představení **infekcí jednotlivých orgánových soustav**, způsobů odběru vzorků, interpretace výsledků a podobně

Ebola



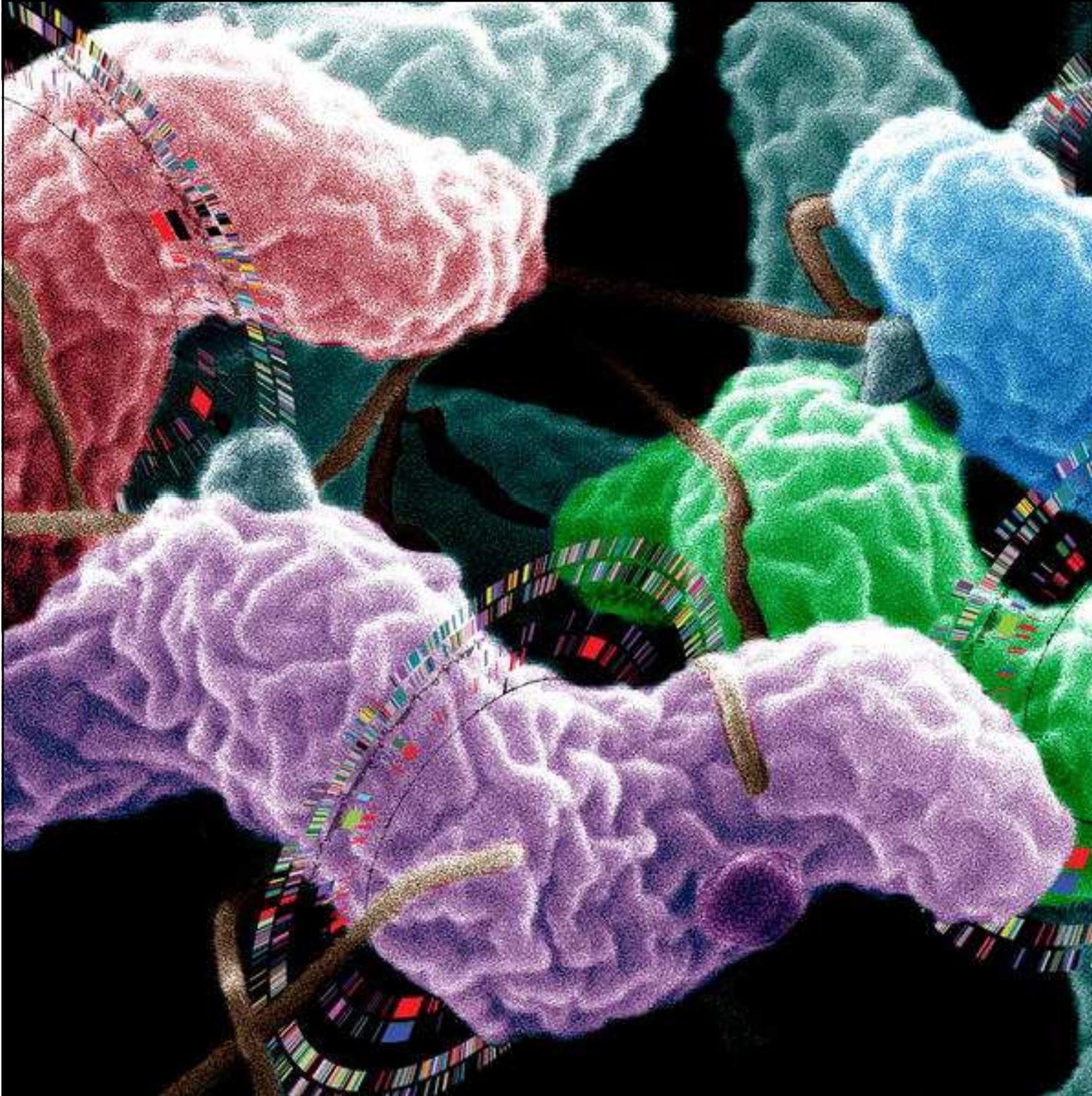
<http://vietsciences.free.fr/khaocuu/nguyenlandung/virus01.htm>

Co je to mikrob

- **Musí to být živé.** Zrníčko prachu není mikrob, i když je mikroskopické
- **Musí to být mikroskopické.** Žirafa není mikrob, i když je živá

Z druhé podmínky se připouštějí výjimky. Třeba tasemnice patří do mikrobiologie přesto, že mohou mít deset metrů. Ale jejich vajíčka jsou mikroskopická.

Bakterie
Helicobacter
a kolem ní
schematicky
její genom



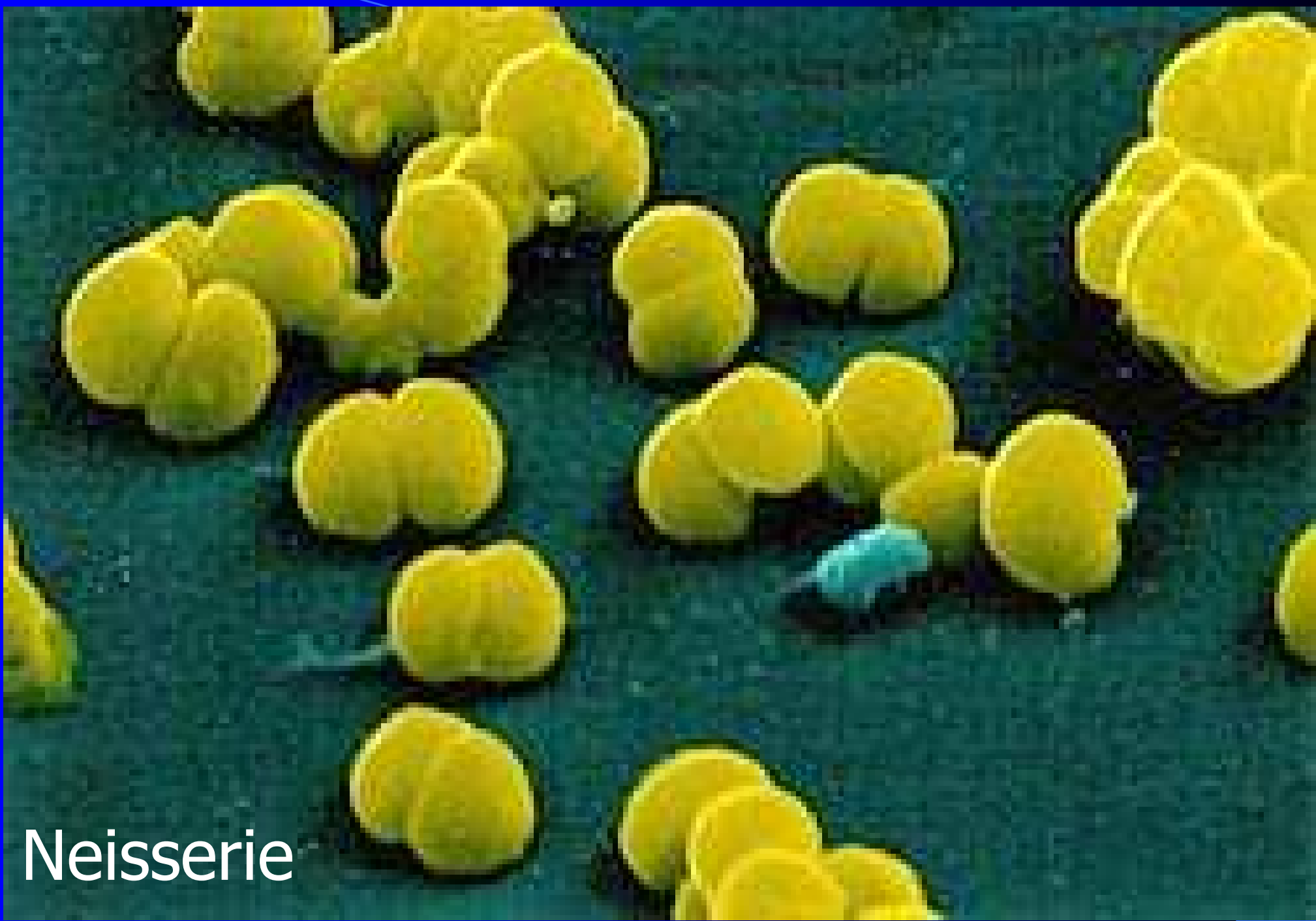
http://biology.plosjournals.org/archive/1545-7885/3/1/figure/10.1371_journal.pbio.0030040.g001-M.jpg

Co jsou všechno mikroby

- Mikroby jsou tedy například **mikroskopické řasy a sinice, archea** (dříve archeobaktérie), různé organismy schopné vydržet hluboko **pod mořem** nebo v extrémních podmínkách **horkých pramenů**
- Jako klinického mikrobiologa mne tyto mikroby neživí, přesto musím uvést, že jsou zajímavé a úžasné

Co tyhle mikroby umí

- Přežívají v moři **v hloubce** 10 km
- Přežijí i **teploty** kolem 110 stupňů Celsia
- Vydrží značnou **radioaktivitu**
- Jsou schopny místo kyslíku „dýchat“ síru či dusík (zkrátka, mají jiný akceptor elektronů než atom kyslíku)
- Mnoho věcí ovšem umějí i mikroby lékařsky významné, jak si povíme dále



Neisserie

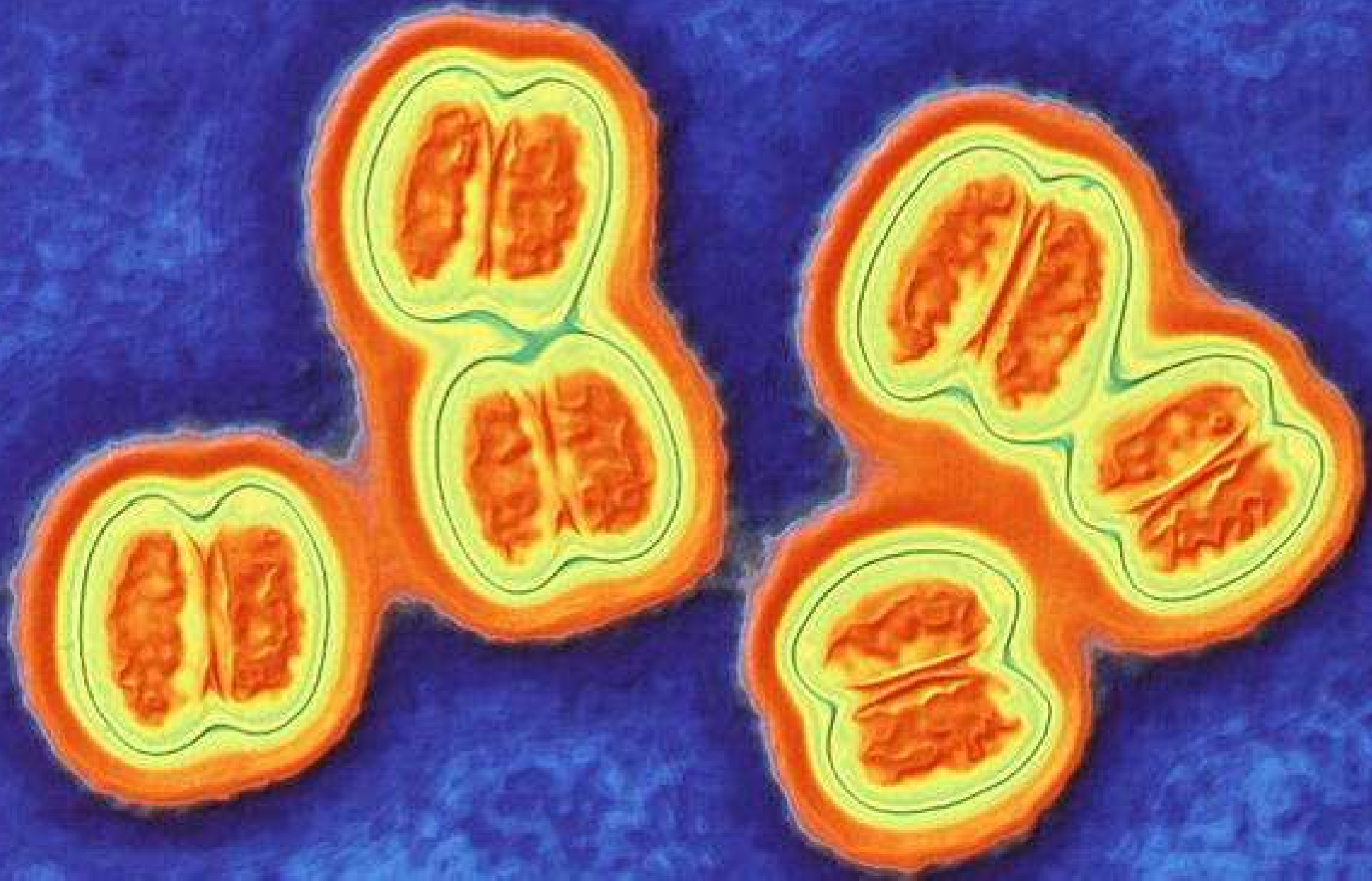
Třídění živých organismů

- **Priony** – *neobsahují DNA, většinou se vůbec nepovažují za živé organismy*
- **Viry a bakteriofágy**
- **Buněčné organismy**
 - **Archea** (archeobakterie)
 - **Eubacteria** (eubakterie)
 - **Eucarya** (eukaryotní organismy)
 - jednobuněčné
 - mnohobuněčné

Klinicky významné mikroby

- Klinicky významné mikroby jsou takové, které jsou **významné pro lidské tělo** (ne tedy pro člověka = tvůrce, ale pro člověka = objekt)
- „Významné pro tělo“ ani zdaleka není totéž jako „tělu škodlivé“. Naopak, **mnohé jsou neškodné, nebo dokonce pomáhají**
- **Každý organismus má své klinicky významné mikroby:** člověk, každý druh zvířete či rostliny. Dokonce i mikroby (třeba bakterie) mají své mikroby (bakteriofágy).

Neisseria gonorrhoeae



Hlavní klinicky významné mikroby

- **Viry** (a priony)
- **Bakterie** (třeba streptokok nebo *Escherichia*)
- **Houby** (kvasinky a plísně)
- **Paraziti** – přesahují pojem mikrob:
 - **Vnitřní paraziti**
 - **Prvoci** (třeba původce malárie)
 - **Motolice** (třeba motolice jaterní)
 - **Hlístice** (třeba roup nebo škrkavka)
 - **Tasemnice** (třeba tasemnice dlouhočlenná)
 - **Vnější paraziti** (vši, blechy, štěnice)

Rozdělení virů

- DNA viry, například

- herpesviry – HSV, VZV, EBV, CMV, HHV6
- adenoviry – některé respirační virózy
- papovaviry – například urogenitální papilomaviry
- parvoviry – například původce páté dětské nemoci
- virus žloutenky B

- RNA viry, například

- enteroviry – polio, coxsackie, ECHO
- rhinoviry – viry rýmy
- viry chřipky, parachřipky, spalniček, zarděnek, příušnic
- viry žloutenek A, C, D, E
- různé viry klíšťových encefalitid, tropických viróz, vztekliny, horeček Lassa a Ebola
- virus HIV

Rozdělení bakterií 1

- podle tvaru a uspořádání
 - koky – kulovité, tvoří dvojice, řetízky, shluky...
 - tyčinky – protáhlé, mohou být rovné, zahnuté...
 - kokotyčinky (kokobacily) – mezi koky a tyčinkami
 - spirochety – ve tvaru spirály
 - bez tvaru – např. mykoplasmata
- podle tzv. Gramova barvení (dáno typem buněčné stěny)
 - grampozitivní – barví se modře
 - gramnegativní – barví se červeně
 - Gramem se nebarvící – jiný typ stěny či bez stěny

Rozdělení bakterií 2

- podle vztahu ke kyslíku
 - striktně aerobní (rostou pouze v přítomnosti kyslíku)
 - striktně anaerobní (vyžadují atmosféru bez kyslíku)
 - fakultativně anaerobní („přepínají“ metabolismus)
 - aerotolerantní (v praxi neodlišitelné od předchozích)
 - mikroaerofilní (potřebují kyslík, ale musí ho být málo)
 - kapnofilní (potřebují kyslík, ale také zvýšený podíl CO₂ v atmosféře)
- v praxi často jen aerobní / anaerobní

Listeria monocytogenes



Co nás zajímá o mikrobech

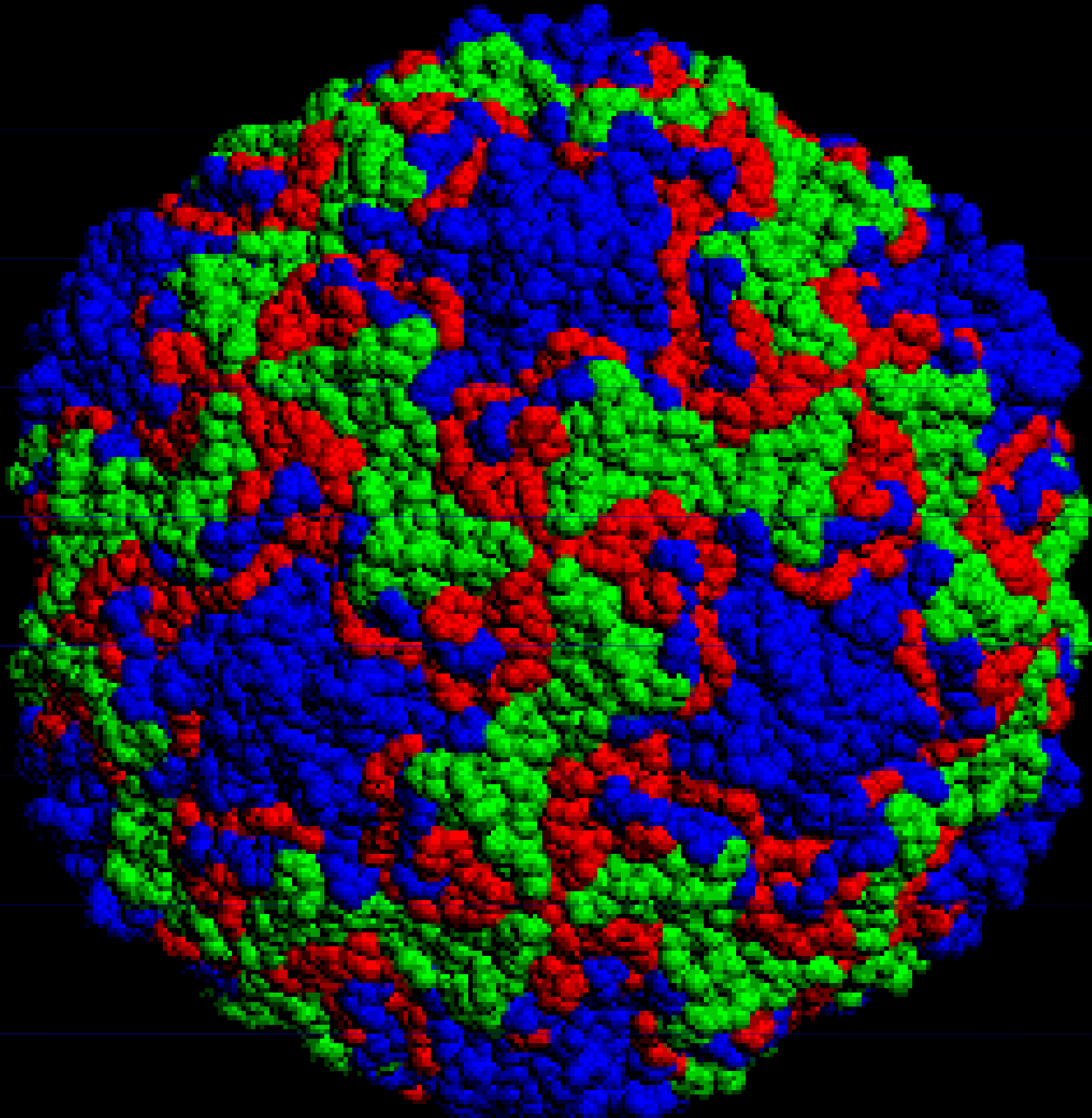
morfologie	jaký mají tvar a uspořádání
struktura	z čeho se skládají
fyziologie	jak se chovají
metabolismus	jak a čím se živí
odolnost	jak vzdorují výkyvům
klasifikace	jak jsou vzájemně příbuzné

Co nás zajímá o klinicky významných mikrobech

patogenita	které orgány osidlují a jak
patogeneze	jakým způsobem případně škodí
přenos	jak se přenášejí
inkubační doba	jak dlouho trvá, než se projeví
diagnostika	jak je můžeme poznat
léčba a prevence	co proti nim můžeme dělat

Morfologie klinicky významných mikroorganismů

- **Viry** se skládají z **DNA** nebo **RNA** a **bílkovin**; některé viry mají navíc membránový obal, který „ukradly“ nějaké hostitelské buňce
- **Viry** mají **kubickou** nebo **šroubovicovou symetrii**. Některé mají třeba tvar dvanáctistěnu. Mohou tvořit „pseudokrystaly“
- **Kvasinky** mají tvar vajíčka, mohou pučet a tvořit tzv. pseudomycelia. Na povrchu mají **b. stěnu**
- **Vláknité houby** a **paraziti** jsou tvarově velice rozmanití, navíc se liší **vývojová stádia**

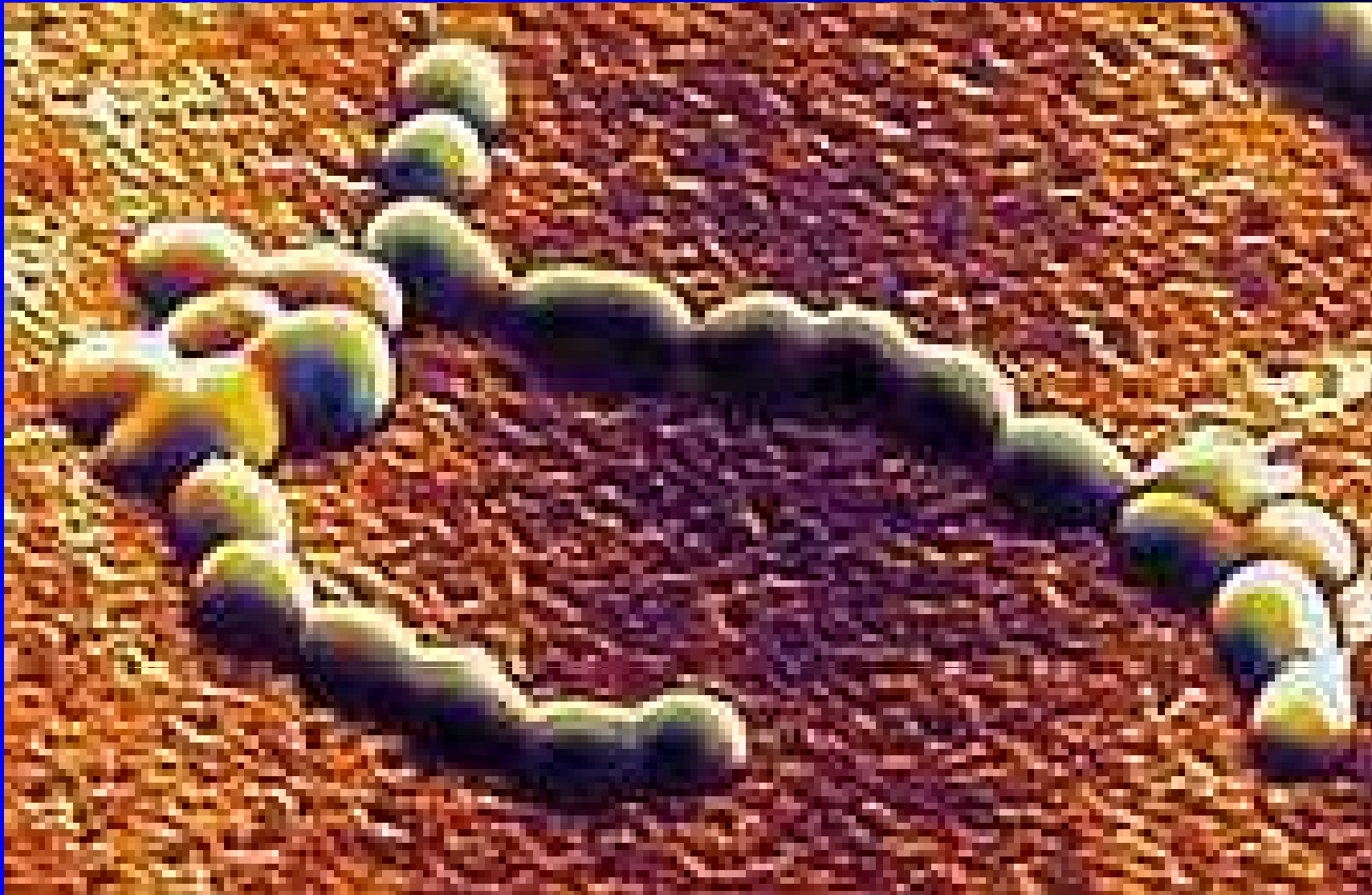


Virus
běžné
řýmy

Morfologie bakterií

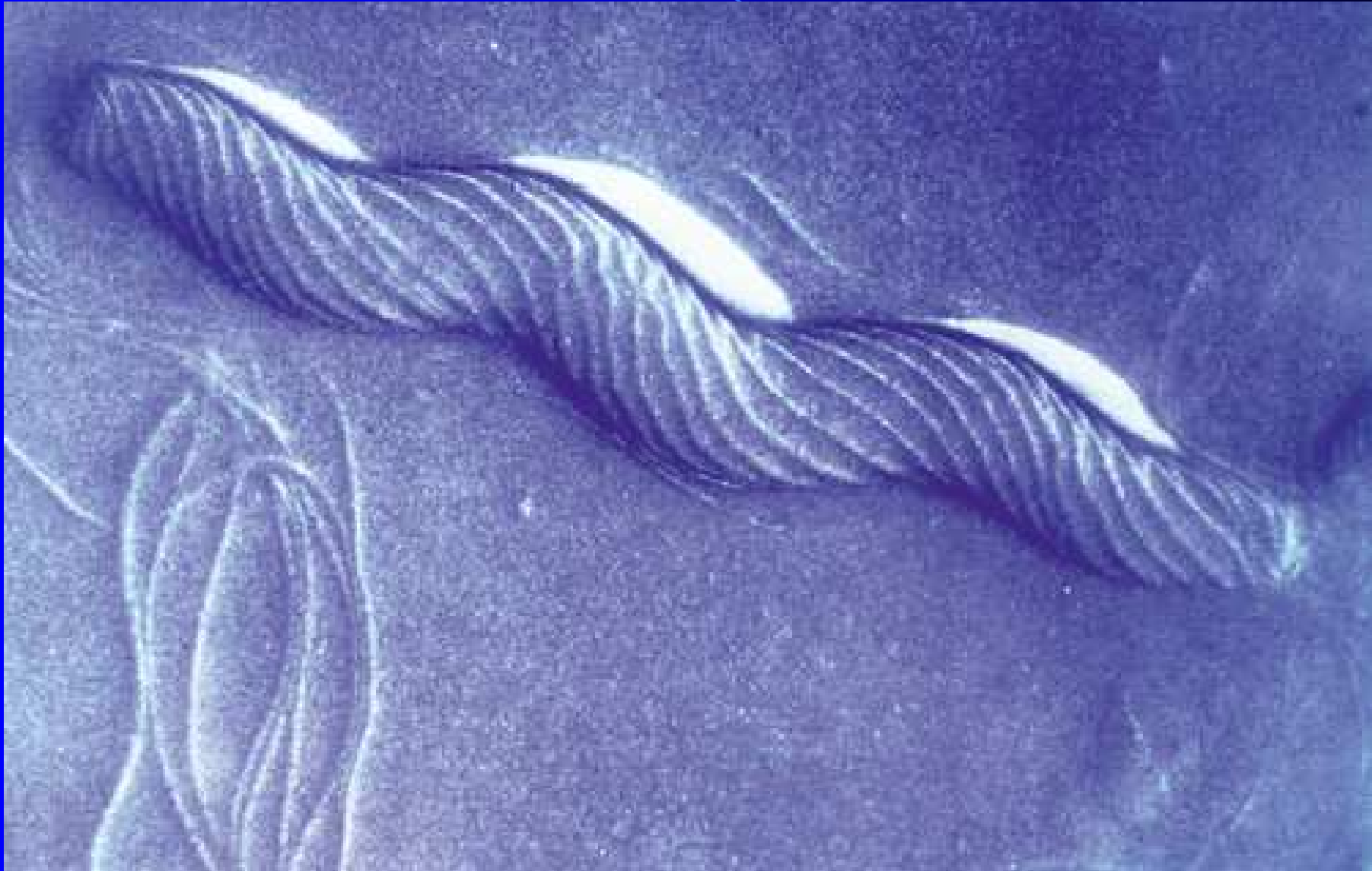
- **Koky** ve dvojicích (diplokoky), v řetězcích a ve shlucích (neříkejme raději „streptokoky“ a „stafylokoky“, bylo by to matoucí)
- **Tyčinky** rovné či zahnuté (vibria), případně několikrát zahnuté (spirily), krátké nebo dlouhé, tvořící až vlákna či rozvětvená vlákna; konce mohou být oblé či špičaté a i tyčinky mohou být různě uspořádané
- **Spirochety** – tenké spirálovité bakterie
- **Beztvaré bakterie**, například mykoplasmata (nemají buněčnou stěnu, takže nemají tvar)

Koky v řetízcích (elektronová mikrofotografie *Enterococcus* sp.)



<http://www.morgenwelt.de/typo3temp/5ce14d39b5.jpg>

Zprohýbaná tyčinka – helikobakter



<http://vietsciences.free.fr/nobel/medecine/images/helicobacter%2520pylori.JPG>

Spirochety

www.primer.ru/std/gallery_std/treponema.htm



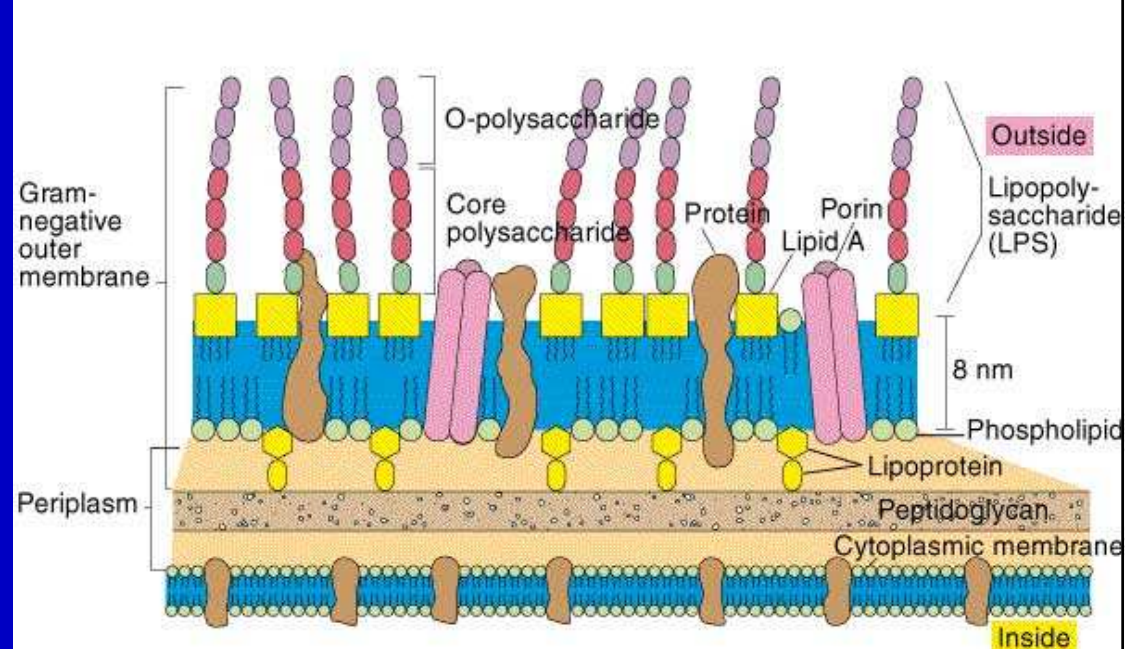
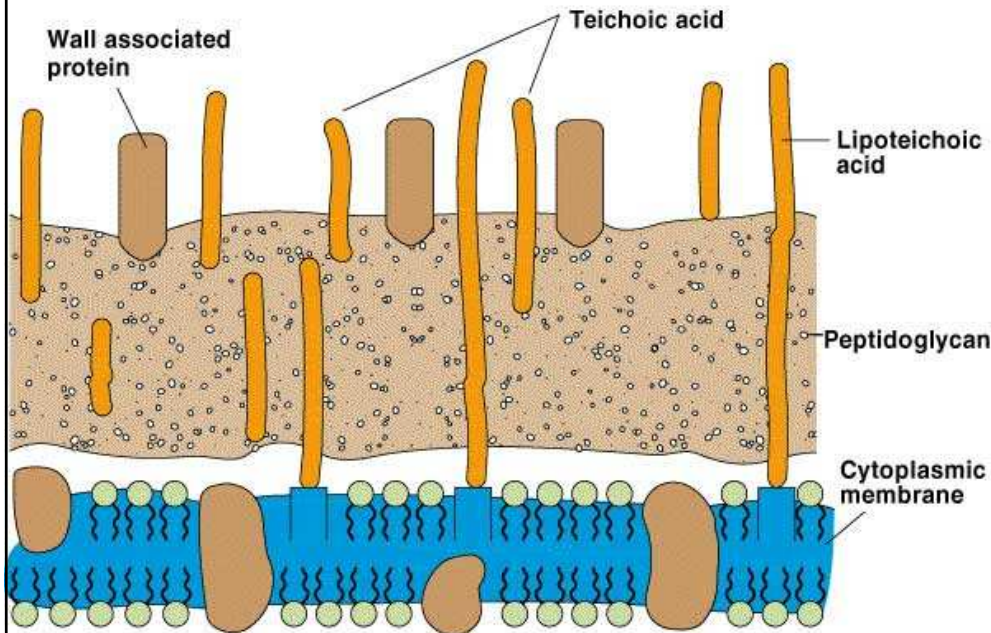
idsc.nih.gov/.../k03/k03_012/k03_012.html

Typ buněčné stěny

- **Grampozitivní bakterie** mají tlustou a jednoduchou buněčnou stěnu. Jsou odolné hlavně mechanicky. Při barvení podle Grama jsou fialové. Například stafylokoky.
- **Gramnegativní bakterie** mají tenkou, ale o to složitější buněčnou stěnu. Jsou odolné hlavně chemicky. Při barvení podle Grama jsou červené. Například escherichie.
- **Gramem se nebarvící bakterie** buněčnou stěnu nemají (mykoplasmata) nebo ji mají hodně jinou (mykobakteria).

Grampozitivní

Gramnegativní



<http://www.arches.uga.edu/~emilyd/mibo3510/gm-%2520cell%2520wall.jpg>

G+



G-

Fimbrie a bičíky

- Mnohé bakterie jsou schopny **pohybu**
- K pohybu slouží hlavně **bičíky**
- **Fimbrie** mohou vedle pohybu sloužit např. i k přilnutí bakterie na povrch nebo při **výměně genetické informace**
- Bičíky bakterií jsou úplně jiné než bičíky eukaryotních organismů

Bakterie s bičíky (*Escherichia coli*)



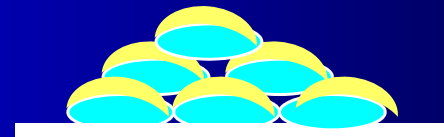
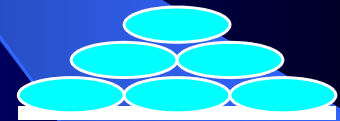
http://www.biotox.cz/toxikon/bakterie/bakterie/obr/escherichia_coli_1.htm

Pouzdro a biofilm

- **Pouzdro** obklopuje jednotlivou bakterii, popř. dvojici. Není to už integrální součást bakteriální buňky, spíš nánosy molekul (většinou polysacharidů), které buňku chrání
- **Biofilm** je souvislá vrstva, vzniklá z bakterií, jejich pouzder a dalšího materiálu. Biofilm je mnohem odolnější než jednotlivá bakterie, žijící v tzv. planktonické formě

Jak se tvoří biofilm bakterií

- **Přímý kontakt** plovoucích bakterií s povrchem
- **Přilnutí** na tento povrch
- **Růst a shlukování** těchto bakterií do mikrokolonií
- Produkce **polymerové matrix**
- Vytvoření **trojrozměrné struktury**, které se říká biofilm
- Bakterie regulují svůj počet pomocí takzvaného **quorum sensingu**

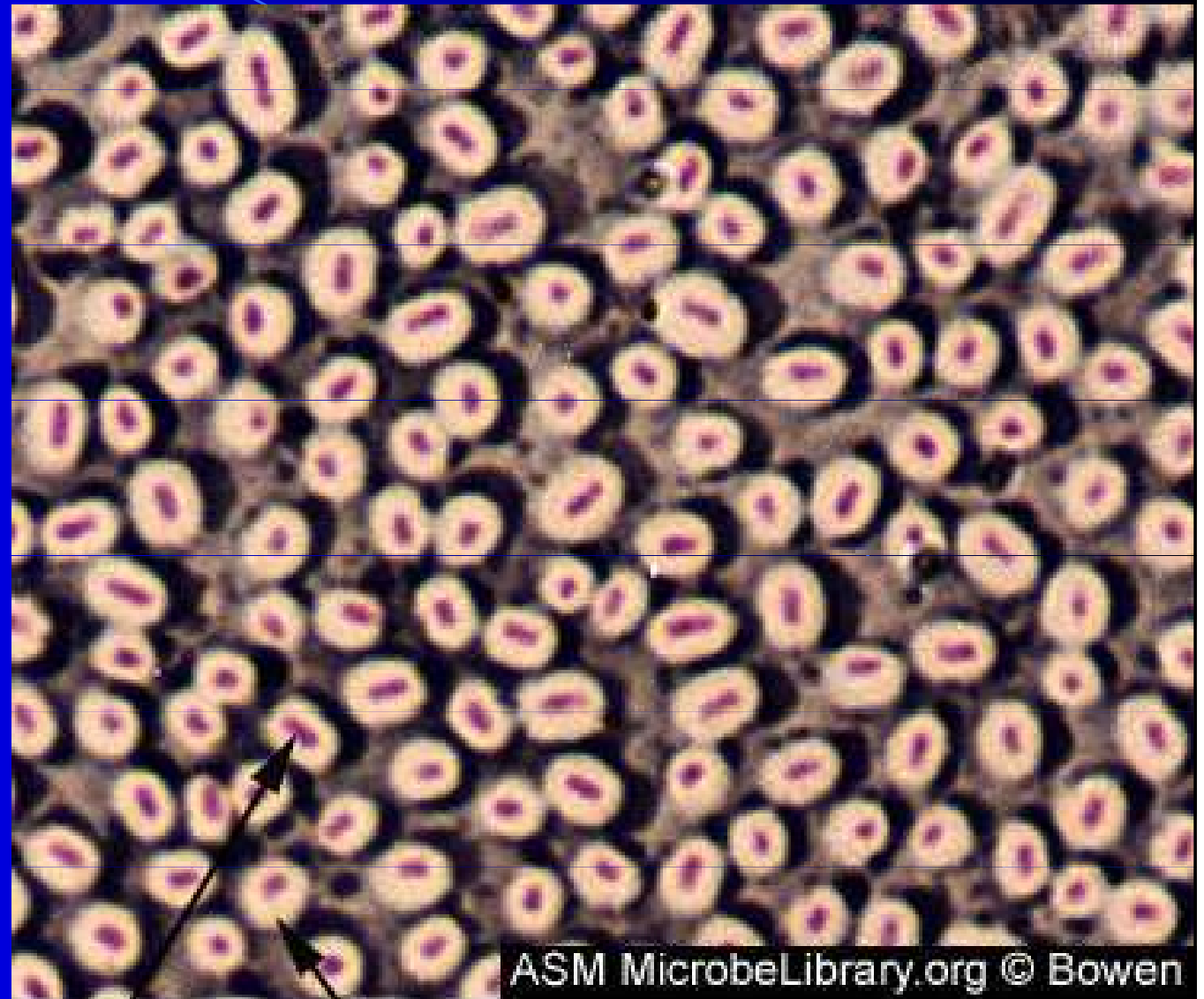


(Podle kolegyně Černožorské z našeho ústavu)

Neobarvené pouzdro

<http://pathmicro.med.sc.edu/fox/capsule.jpg>

V barvení dle Burriho byly nabarveny bakterie na červeně a pozadí dobarveno tuší; mikroskopista pak tuší pouzdro tam, kde se nic neobarvilo



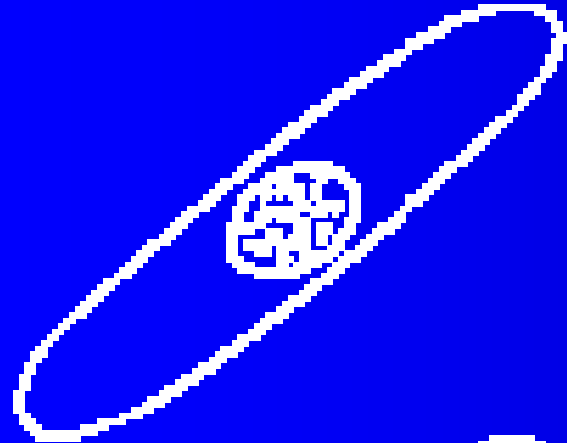
Cell

Capsule

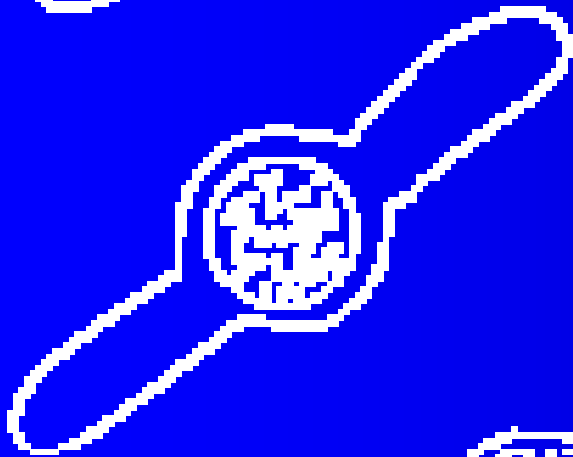
Sporulace

- Sporulace je **něco jako zimní spánek**, ale mnohem dokonalejší než je zimní spánek zvířat. Opakem spory je **vegetativní forma** života buňky
- Spory přežijí velmi **vysoké teploty, vyschnutí, desinfekci** a podobně
- Spora vzniká tak, že se **buňka rozdělí na dvě části**. Ty se však neoddělí úplně: jedna, ze které se stane spora, je obklopena tou druhou, které zůstává vegetativní forma. Takové spoře říkáme **endospora**
- V extrémních podmínkách **vegetativní buňka hyne a zůstane pouze spora**
- Za příznivých podmínek **spora vyklíčí**
- *Neplet' me si spory bakterií a spory hub!*

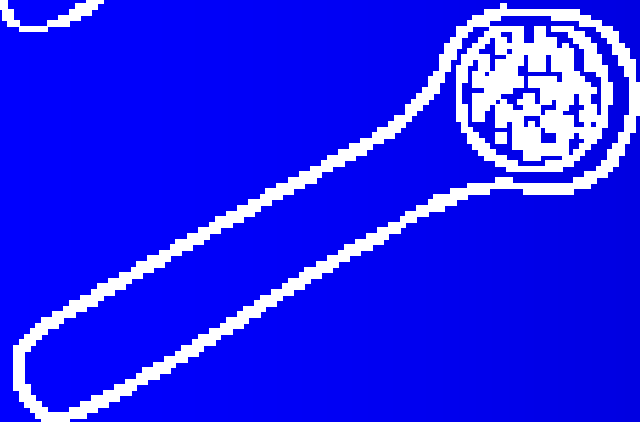
Spory různých druhů rodu *Bacillus*



ex : *B. Subtilis*
B. Cereus
B. Thuringiensis
B. Anthracis



ex : *B. Polysporus* (fixe le N₂)



ex : *B. Pasteurii* (dégrade l'Urée)

<http://membres.lycos.fr/neb5000/BacteriologieI/Groupes%20Bacteriens/Batonnets%20et%20coque%20Gram-positifs%20formant%20des%20endospores.htm>

Spory jsou biochemicky neaktivní,
samy o sobě se nebarví při téměř
žádném barvení



Fyziologie a metabolismus bakterií

- Tak jako každý organismus, i bakterie mají svůj **katabolismus a anabolismus**
- Katabolismus může být trojí:
 - **Fermentace** – štěpení bez potřeby kyslíku. Málo energeticky výhodný, ale nepotřebuje kyslík. Využívají ji například střevní bakterie
 - **Aerobní respirace** – z mála živin se získá hodně energie, je ale nutný kyslík. Využívají ji bakterie, které nacházíme ve vnějším prostředí, na rostlinách aj.
 - **Anaerobní respirace** – jiný akceptor elektronů než kyslík, pro člověka málo významné

Množení bakterií

- Každá bakterie má svou **generační dobu**
- Za jednu generační dobu jsou z jedné dvě, za desetinásobek je z jedné bakterie 1024 bakterií (teoreticky) a podobně
- Ideální množení by existovalo pouze kdybychom neustále přidávali živiny a popř. kyslík a odebírali odpadní produkty
- Pozor, neplet'te si generační dobu (za jak dlouho se bakterie rozdělí na dvě) a kultivační dobu (za jak dlouho vidíme výsledek na kultivační půdě)



Foto: archiv MÚ

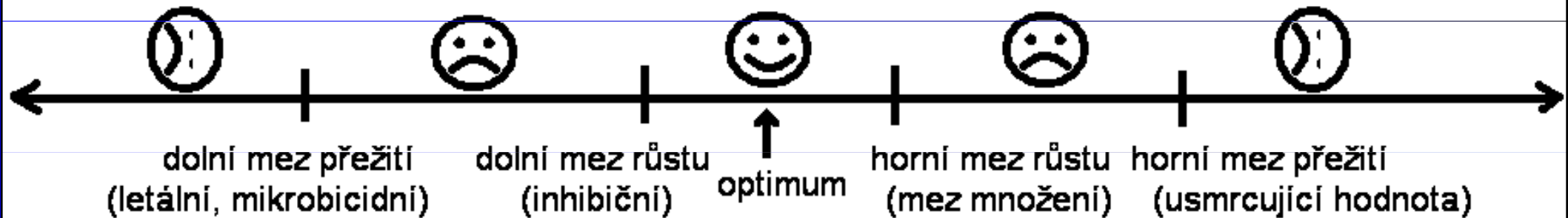
V jedné z našich laboratoří

Životní podmínky bakterií

- Pro život bakterií jsou nutné **určité podmínky**
- Tyto podmínky musíme splnit také v případě, že chceme bakterie **uměle pěstovat** (třeba proto, abychom je přitom mohli určovat)
- Nestačí takové, aby bakterie přežívala. **Musí být i schopna se množit**
- Na druhou stranu, **pokud s bakteriemi bojujeme** (při desinfekci, sterilizaci), nestačí obvykle potlačit jejich množení, ale **musíme je úplně zahubit.**

Životní podmínky – pokračování

- Podmínky musí být splněny, co se týče **teploty**, **pH**, **koncentrace solí** a mnoha dalších věcí
- Nepůsobí přitom jednotlivě, **kombinují se**



Takto působí na bakterie např. různé pH (za předpokladu, že se nemění ostatní podmínky)

Interakce mikrob – makroorganismus: obecně (1)

- Mezi **mikrobem** (mikroorganismem) a **hostitelským organismem** (člověk, ale i zvíře, rostlina, jiný mikrob...) může nastat celá škála vztahů – interakcí. Může to být kooperace (člověk poskytuje útočiště střevním escherichiím a ty se mu za to odvděčí tvorbou vitamínů), indiferentní vztah nebo přímo antagonistický vztah.

Interakce mikrob – makroorganismus: obecně (2)

- Z hlediska klinické mikrobiologie je významný **vztah mikroorganismus – makroorganismus** (což může být člověk, ale také zvíře či rostlina)
- Může jít o **symbiózu, neutrální vztah** či **antibiózu**
- Často se používají i **termíny z potravních řetězců** (komezalismus, saprofytismus, parazitismus).
Virulentní mikrobi jsou zpravidla – ale ne vždy – parazitické
- **Ne vždycky se dají mikrobi jednoduše „zaškatulkovat“**. Často záleží na okolnostech, jestli bude mikrob „zlý“ nebo „hodný“

Interakce mikrob – makroorganismus: mikroby napadající člověka

- Mikroorganismy, které napadají člověka, jsou vybaveny různými **faktory virulence** – jsou to faktory, které zajišťují schopnost mikroba proniknout do organismu. Nejčastěji to bývají různé enzymy, toxiny, bakteriální pouzdro aj.
- Makroorganismus se mikrobům brání řadou různých způsobů. Jde vždy o to, zda se více prosadí faktor virulence mikroba, nebo **mechanismus obranyschopnosti makroorganismu**

Patogenita mikroorganismů

- Existují mikroby **nepatogenní** – neschopné vyvolat nemoc. Většinou jsou to ty, které vůbec nejsou schopny do organismu proniknout.
- Existují mikroby **podmíněně patogenní**, které vyvolávají nemoci jen za určitých podmínek. Často jsou to prospěšné bakterie, které jsou většinou „hodné“ a jen výjimečně začnou „zlobit“, když se třeba dostanou kam nemají, nebo když zmutují
- Existují i mikroby **obligátně patogenní**, které vyvolávají nemoc vždy, když se dostanou do těla v dostatečném počtu a vhodným způsobem

Předpoklady patogenity

- 1) Přenosnost z hostitele (zdroje) na další organismus (osobu)
- 2) **Nakažlivost** – schopnost narušit obranu hostitele
- 3) **Virulence** – schopnost mikroba nějak poškodit hostitele.

Faktory zodpovědné za virulenci, respektive patogenitu

Kolonizace hostitele – fimbrie, bičíky, adheziny

Faktory invazivity – vnikání do tkáně

Toxiny (jedy), hlavně u bakterií: neurotoxiny, enterotoxiny, lokální toxiny a jiné

Faktory boje s obrannými mechanismy hostitele

Biofilm – složitý útvar, složený nejen z mikrobů

Patogenita a virulence

Virulence

okamžitá vlastnost konkrétního kmene mikroba (kmen = populace z jedné buňky)

Kmeny tedy mohou být

avirulentní – tedy v daném okamžiku úplně neškodné, neschopné napadat makroorganismus

méně či více virulentní – tedy disponující různou mírou schopnosti napadnout makroorganismus.

Patogenita

vlastnost určitého mikrobiálního druhu

Nepatogenní: nejsou schopny vyvolat u daného živočišného druhu nemoc.

Potenciální (oportunní) patogeni: vyvolávají chorobu jen někdy

Obligátní (primární) patogeni vyvolávají nemoc "vždy"

Příklad působení patogenního mikroba



These large, dark, boil-like blisters are a diagnostic symptom of necrotizing fasciitis (also known as flesh-eating disease).

(Source: EMBSS, 1996 <http://mdchoice.com/>)

Hodné mikroby: běžná mikroflóra

- **Mnoho mikrobů nám pomáhá.** Tím, že osidlují naše sliznice, zabrání tomu, aby je osídlily zlé patogenní mikroby. Některé pomáhají i jinak
- Nejvíc, asi kilogram, je jich **v tlustém střevě**
- Hodně mikrobů je i **v dutině ústní a v hltanu**
- U žen je mikrobiální ekosystém **v pochvě**
- I přes relativní nedostatek vody má svoji mikroflóru také **kůže** (poněkud se liší na různých místech)

<http://faculty.smu.edu/ayati/proteus/proteus1.gif>



Plazivá bakterie *Proteus* se podílí na likvidaci nestrávených bílkovinných zbytků potravy

Mikroflóra jako ekosystém

- Kdysi lidé mysleli, že všechny škůdce úrody jednoduše zahubí například DDT. Ukázalo se ale, že takový **brutální zásah často nadělá víc škody než užitku**, zvláště když se použije nevhodným způsobem
- Podobně **složitý ekosystém je i třeba střevní mikroflóra**. I proto dnes na střevní infekce většinou nedoporučujeme antibiotika, protože systém „rozhodí“ často ještě víc.

Co ovlivňuje infekci

- **Vstupní brána infekce** (kudy mikrob pronikl)
- **Forma infekce**
 - podle rozsahu – lokální / celková
 - podle vyjádření průběhu – bezpříznaková / příznaková
 - u infekce s příznaky dále průběh abortivní – typický – komplikovaný
- **Vylučování mikrobů z těla**

V podstatě je plynulý přechod mezi infekcí, bezpříznakovou kolonizací a běžnou flórou.

Co ovlivňuje formu infekce

- **na straně mikroba:** vybavenost faktory virulence (může být dána třeba i tím, že mikrob sám je napaden bakteriálním virem – bakteriofágem)
- **na straně makroorganismu:** stav imunity, stav anatomických bariér, hormonální rovnováha, případné základní onemocnění a spousta dalších věcí
- **forma vzájemného setkání** mikroba a makroorganismu

Na shledanou za týden!

