

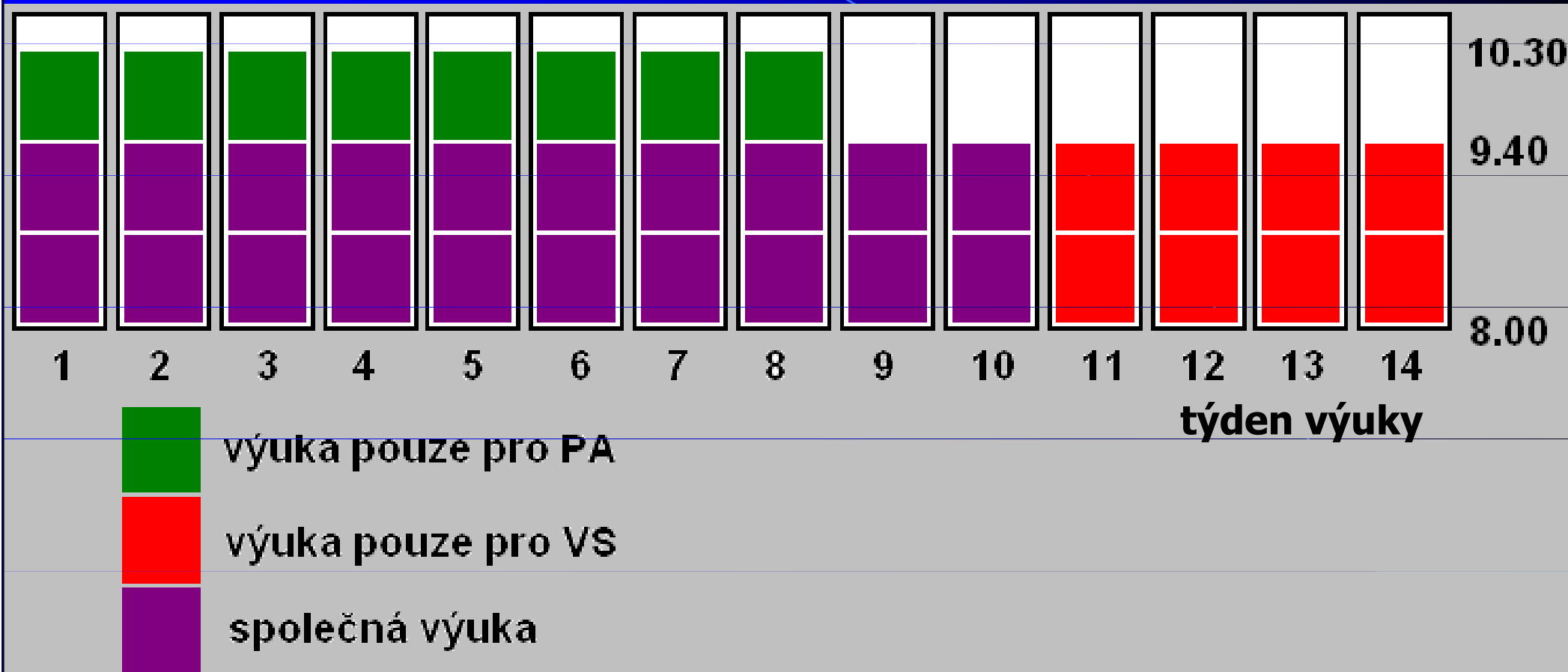
Abych se představil

- MUDr. Ondřej Zahradníček
- povolání: **klinický mikrobiolog**, asistent na LF MU; učíme u nás bakalářské obory, mediky, zubaře i studenty PŘF a od letoška i PedF
- formálně máme mít polovinu přednášek a polovinu cvičení, **reálně to bude přednáška či seminář**, budu se ale snažit nosit buď letáky, nebo přímo věci z naší laboratoře
- **zájemci se u mne mohou přihlásit a mohou se přijít podívat přímo k nám**

Letošní novinka: rozštěpení výuky VS a PA

- V loňském roce mne oslovila pracovnice katedry porodní asistence se žádostí o sesunutí výuky do prvních deseti týdnů kvůli praxím
- Využil jsem toho k rozštěpení výuky a zařazení některých specificky porodnických témat
- Technicky:
- **dvacet hodin** bude společných (1. až 10. týden první dvě hodiny)
- **osm hodin** budou mít zvlášť PA (1. až 8. týden třetí hodina)
- **osm hodin** budou mít zvlášť VS (11. až 14. týden)

Jak to tedy bude



V případě odpadnutí výuky
budeme řešit situaci operativně

Učební materiály

- **Odpřednášené prezentace** budou vyvěšeny ve Studijních materiálech předmětů VSKM021p i c na IS MU.
- Tamtéž už nyní visí **skripta** ve dvou verzích
- Členění skript odpovídá jednotlivým přednáškám, včetně toho, že PA nemají ve skriptech kapitoly 11 až 14, ale zato tam mají kapitoly 1A až 8A
- Kapitoly 1A až 4A jsou zkrácené kapitoly 11 až 14. Kapitoly 5A až 8A jsou nové pro PA.

Zkouška

- **Já nezkouším.** Zkoušejí dvě moje kolegyně: as. MUDr. Lenka Černožorská, PhD., a as. Mgr. Monika Dvořáková Heroldová, PhD.
- Obě jsou hodné, a **kdo se bude poctivě učit, nemá důvod se jich ani v nejmenším bát**
- Na konci bude zkouška. Každý si vytáhne dvojici otázek (z celkem 48 otázek).
- Většina otázek je shodných pro PA i VS, existují však některé odchylky

Náš
ústav



Foto: Archiv MU

Výuka

Výzkum

Provoz
(analýza
klinických
vzorků)

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

env
Surface Glycoprotein SU
gp120

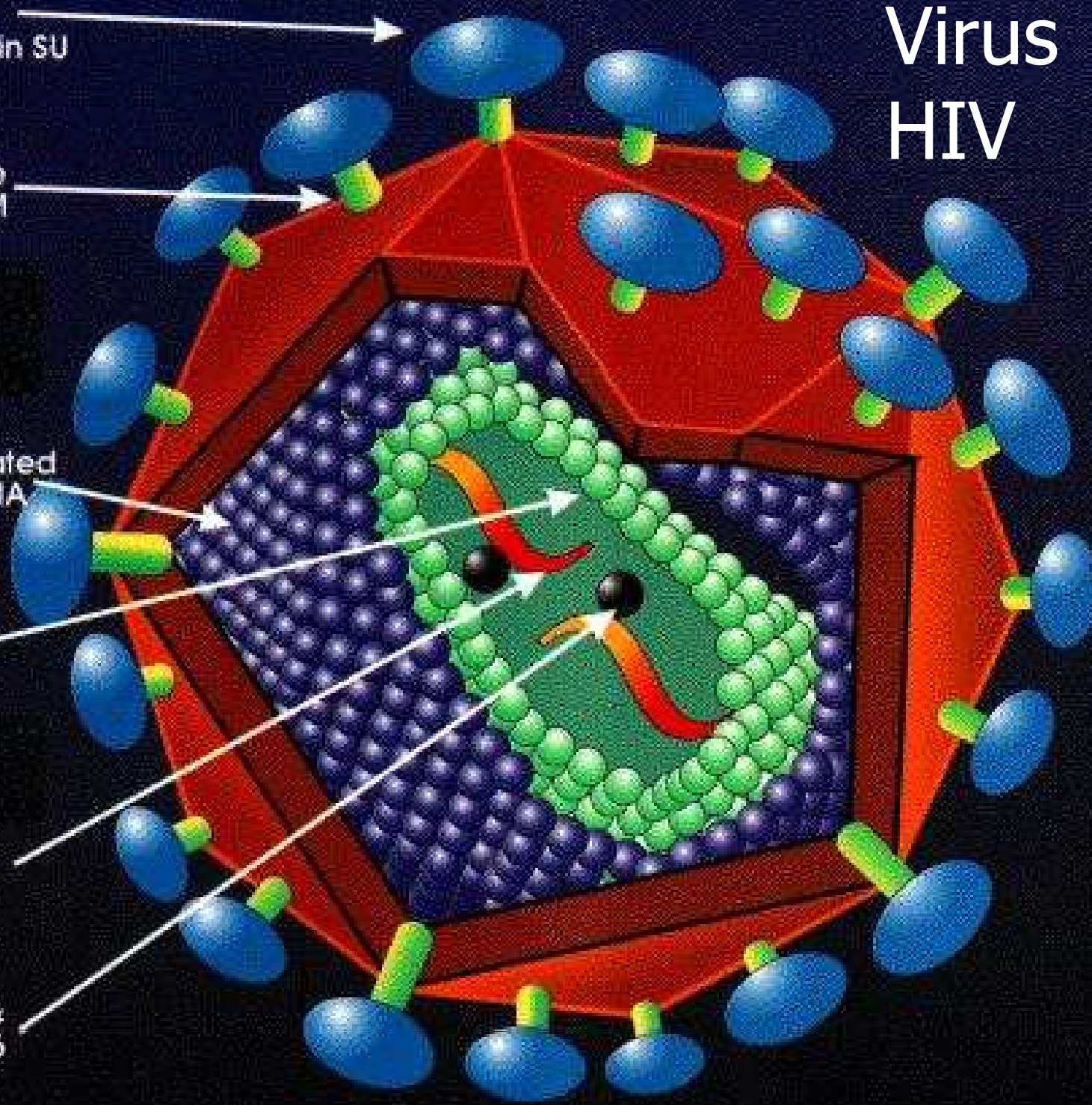
env
Transmembrane
Glycoprotein TM
gp41

gag
Membrane Associated
(Matrix) Protein MA
p17

gag
Capsid CA
(Core Shell)
p24

RNA
(2 molecules)

pol
Protease PR p9
Polymersase RT &
RNAse H RNH p66
Integrase IN p32



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



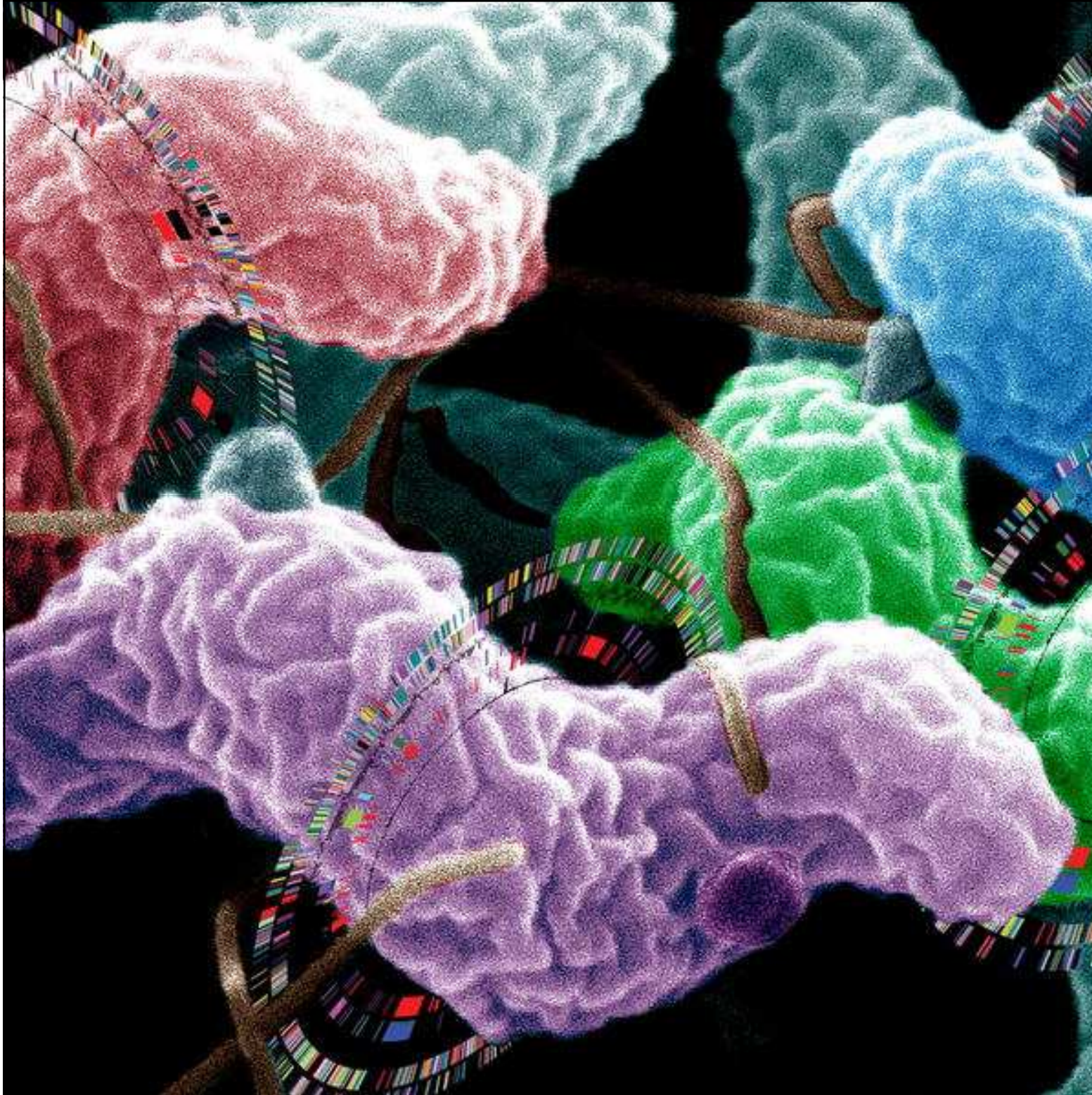
<http://vietsciences.free.fr/khaocuu/nguyenlandung/virus01.htm>

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



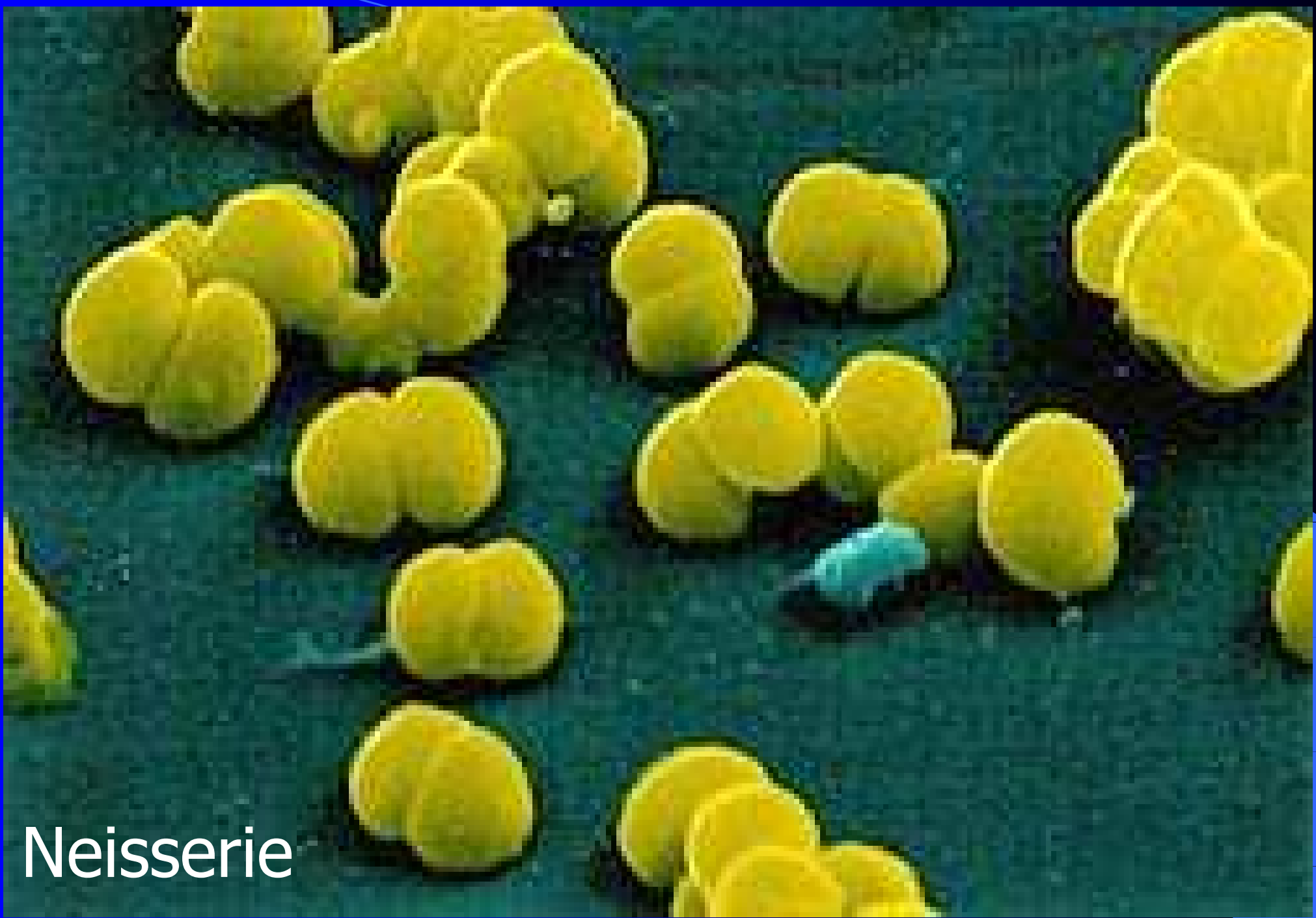
http://biology.plosjournals.org/archive/1545-7885/3/1/figure/10.1371_journal.pbio.0030040.g001-M.jpg

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

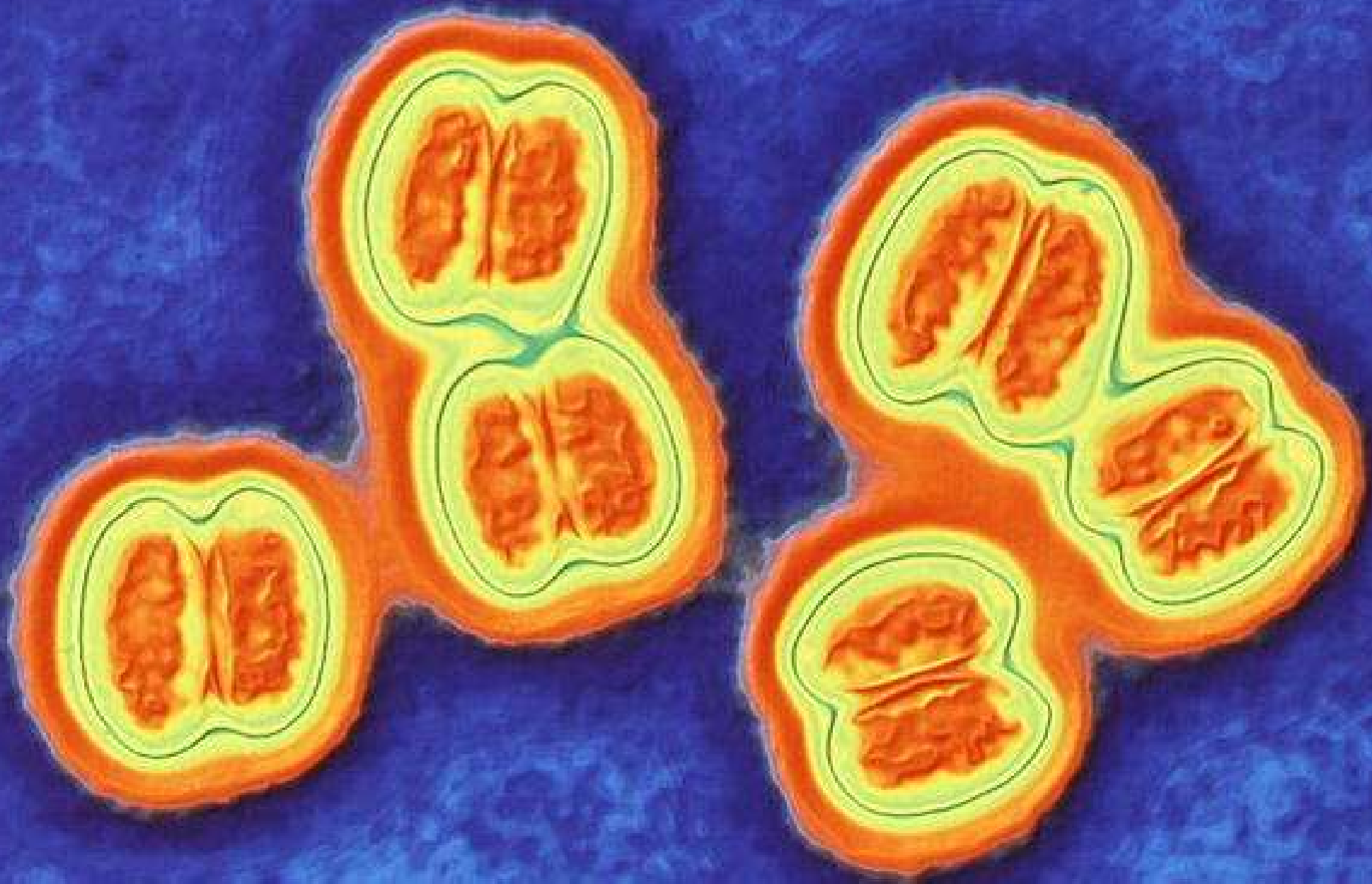
Třídění živých organismů

- **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

Proč znát přehled mikrobů

- Pokud umíme mikroba zařadit (alespoň rámcově: je to bakterie, kok, grampozitivní) znamená to, že můžeme odhadnout jeho základní vlastnosti a vhodný způsob léčby
- **Přehled mikrobů v rozsahu, jaký byste měli znát, je uveden v obou verzích skript. Tady na přednášce není, protože na tom není co vysvětlovat. To se holt musí naučit.**

Jsou situace, kdy hýžd'ové svalstvo je důležitější než mozek 😊

Listeria monocytogenes



Co nás zajímá o mikrobech

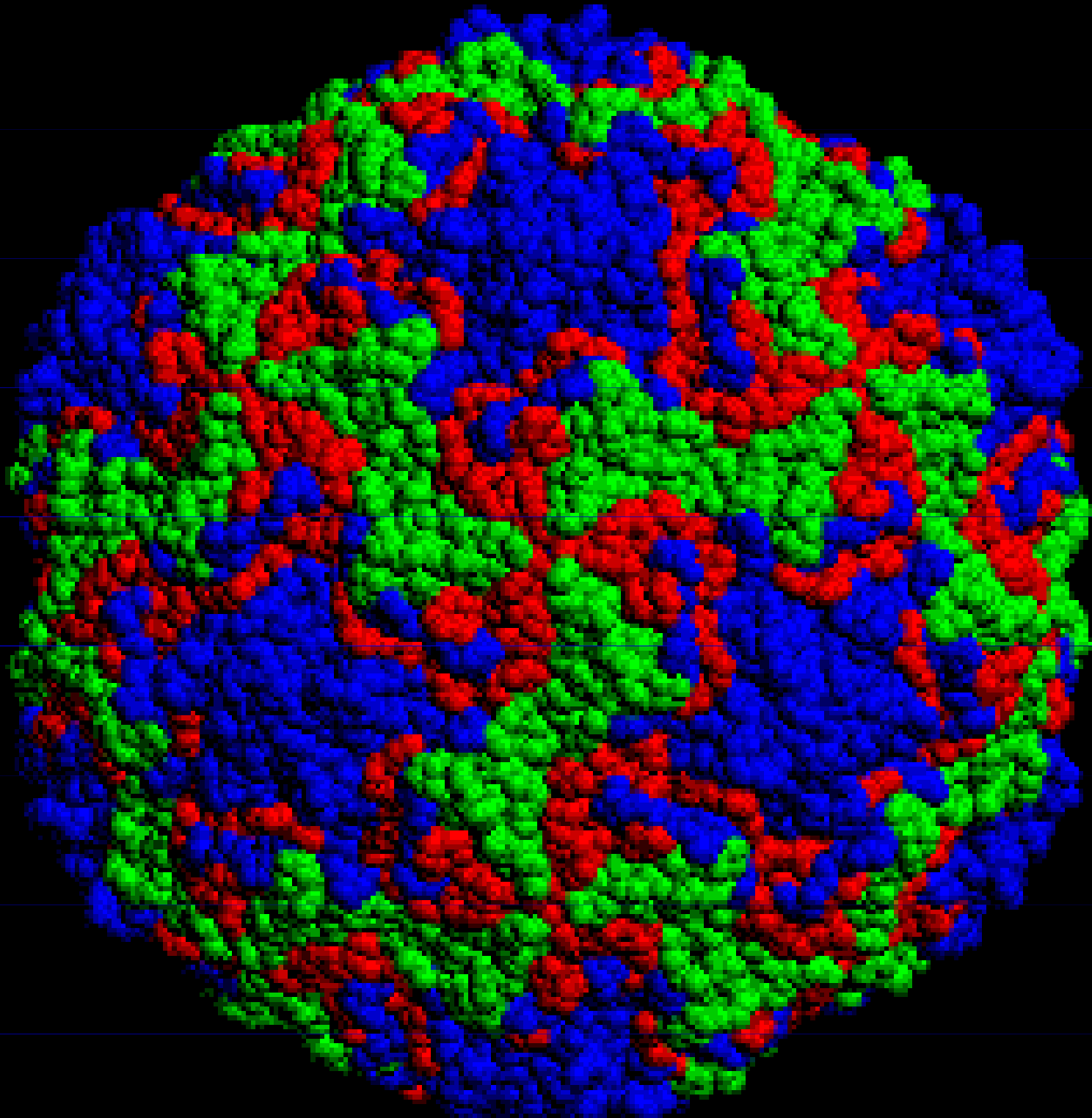
morfologie	jaký mají tvar a uspořádání
struktura	z čeho se skládají
fyziologie	jak se chovají
metabolismus	jak a čím se živí
odolnost	jak vzdorují výkyvům
klasifikace	jak jsou vzájemně příbuzné

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**

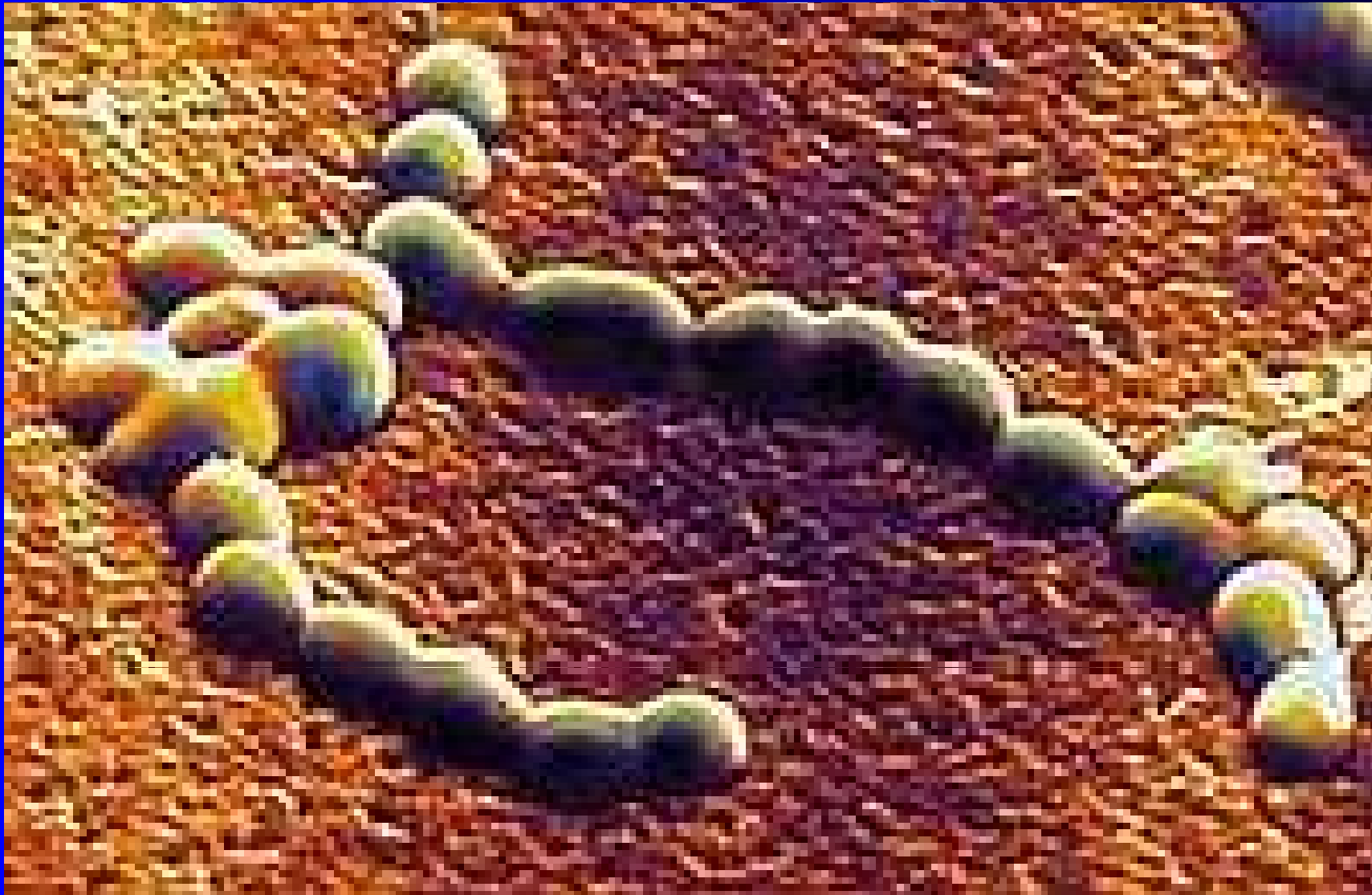


Virus běžné řýmy

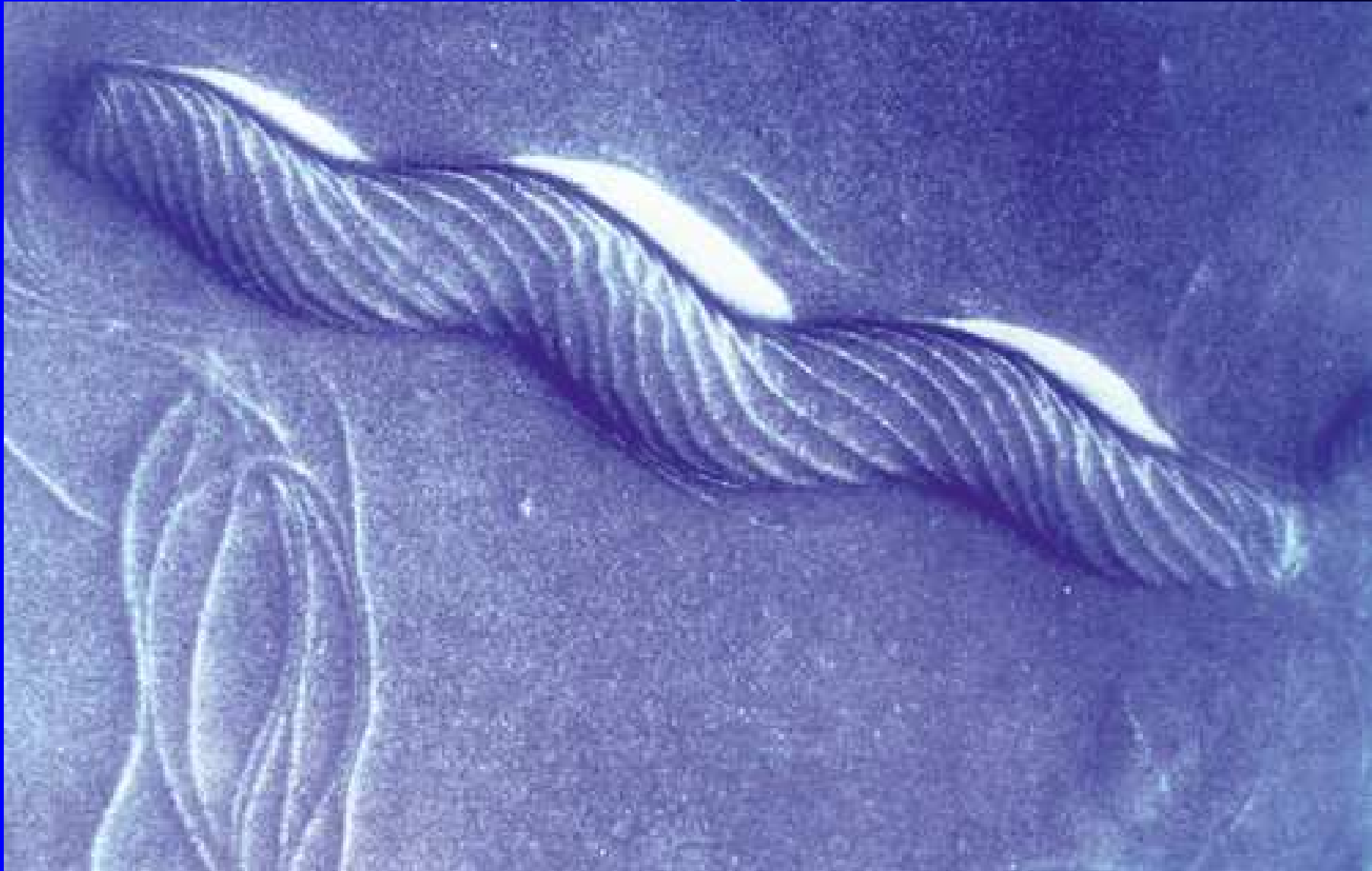
Morfologie bakterií

- **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.)



Zprohýbaná tyčinka – helikobakter



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

Spirochety

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



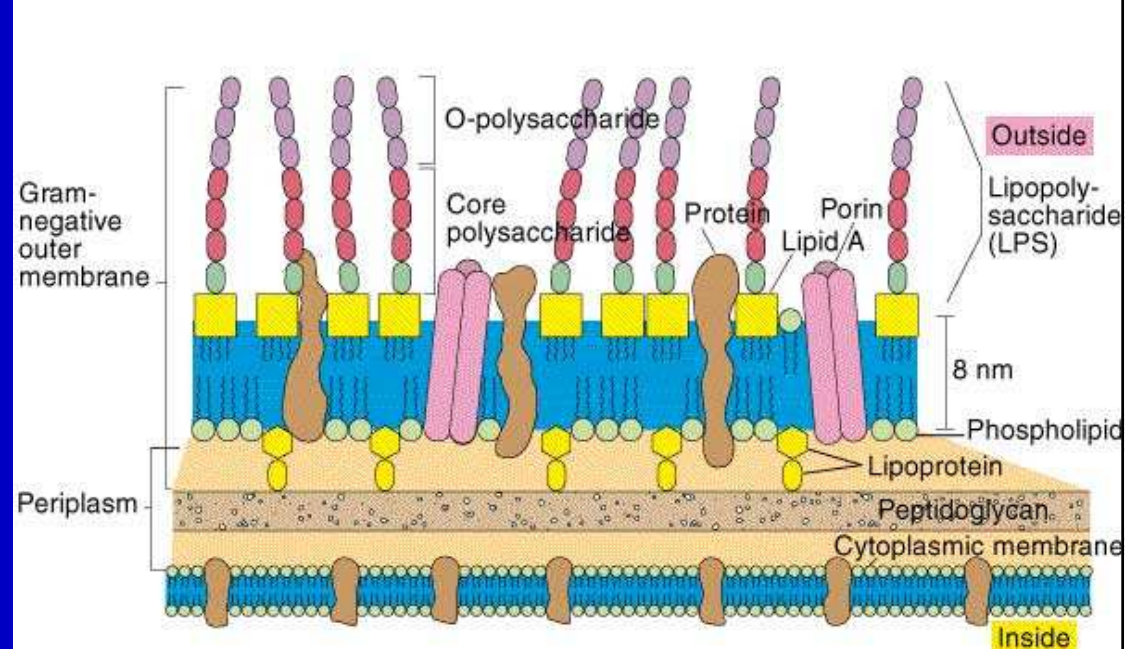
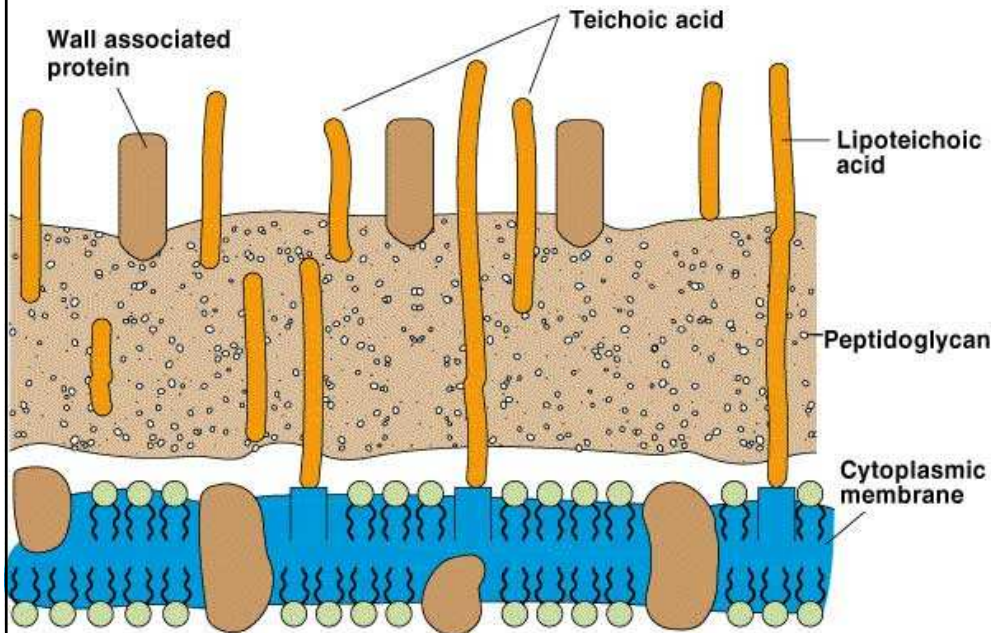
idsc.nih.gov/.../k03/k03_012/k03_012.html

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*)



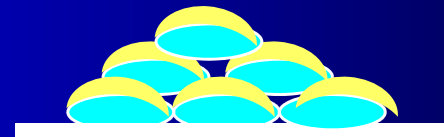
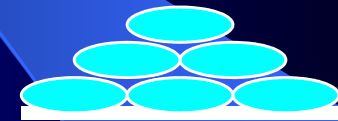
http://www.biotox.cz/toxikon/bakterie/bakterie/obr/escherichia_coli_1.htm

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**

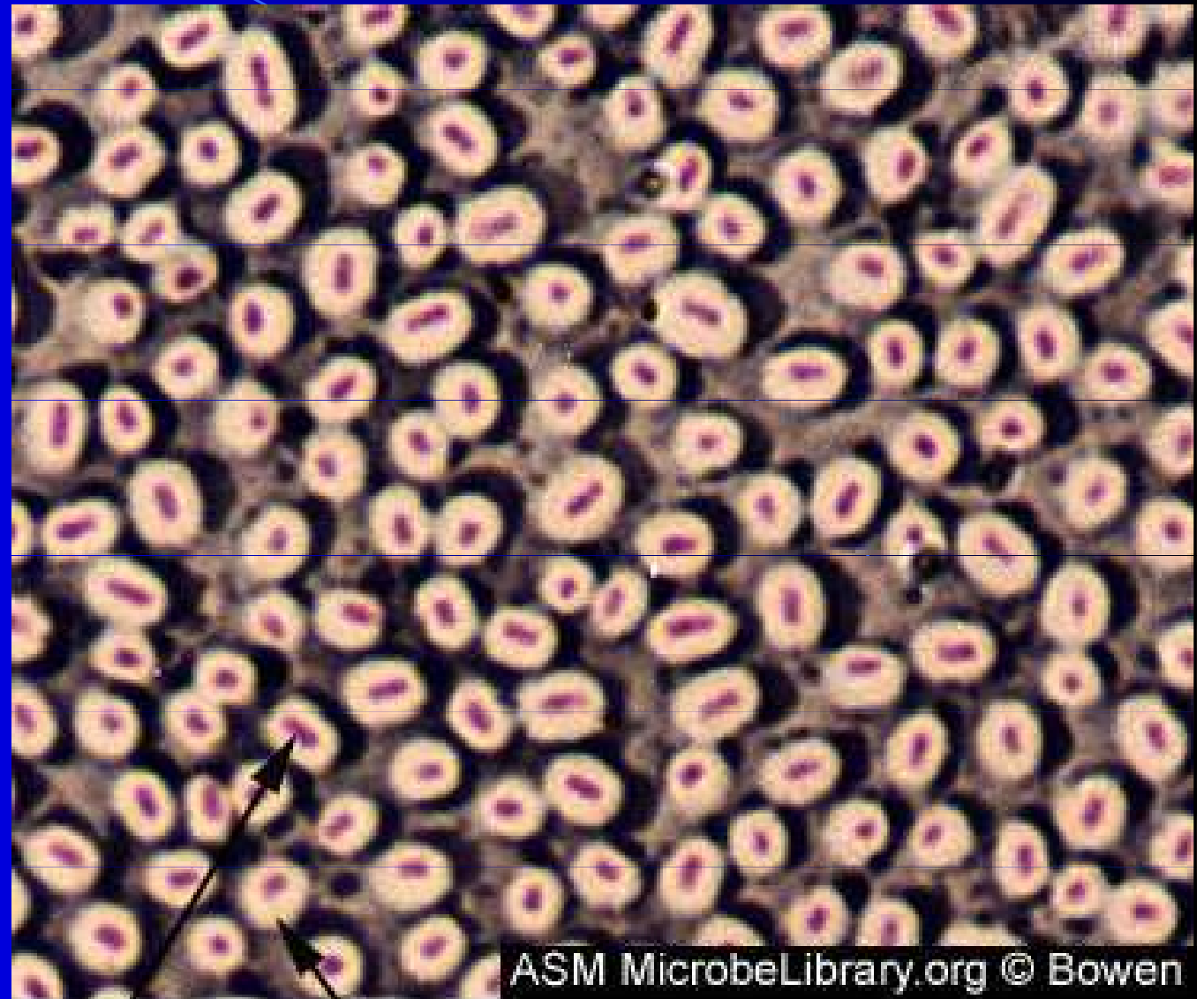


(Podle kolegyně Černožorské z našeho ústavu)

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



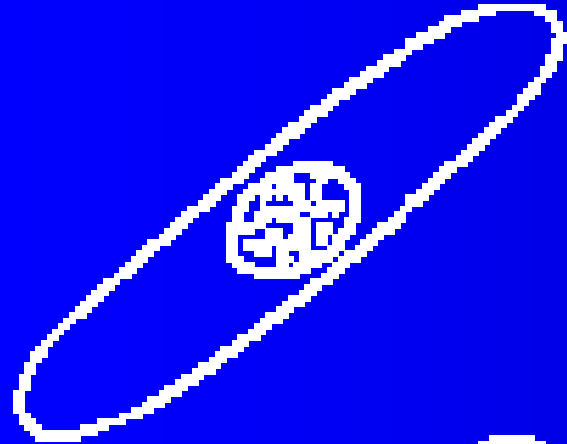
Cell

Capsule

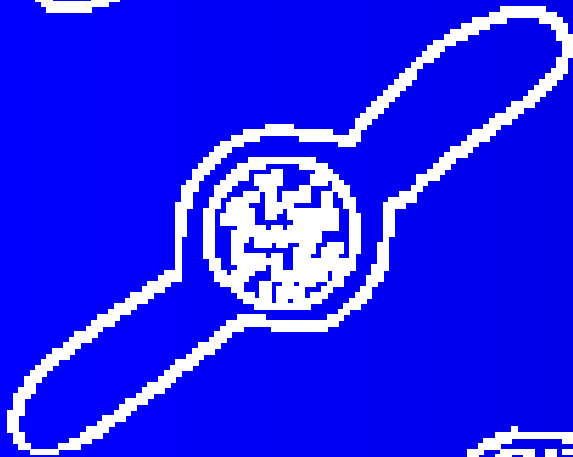
Sporulace

- 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!*

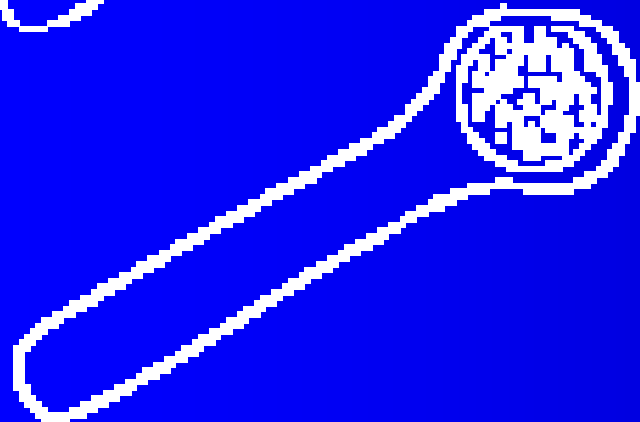
Spory různých druhů rodu *Bacillus*



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

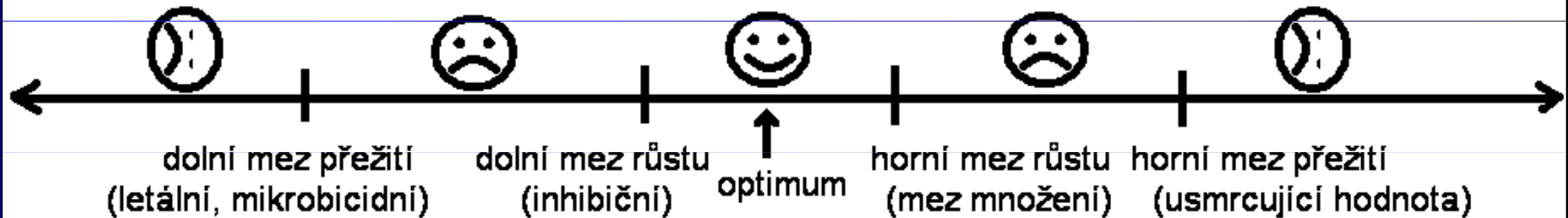
V jedné z našich laboratoří

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)



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

Pro VS: Na shledanou za týden!
Pro PA: Za pět minut pokračujeme!

