

Mikrobiologie v kostce

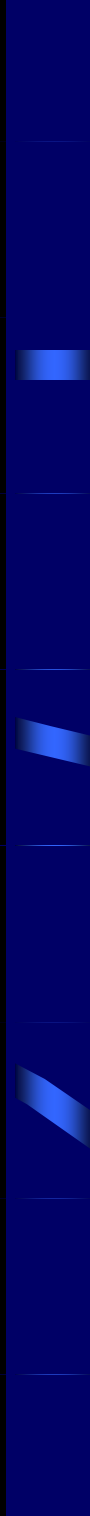
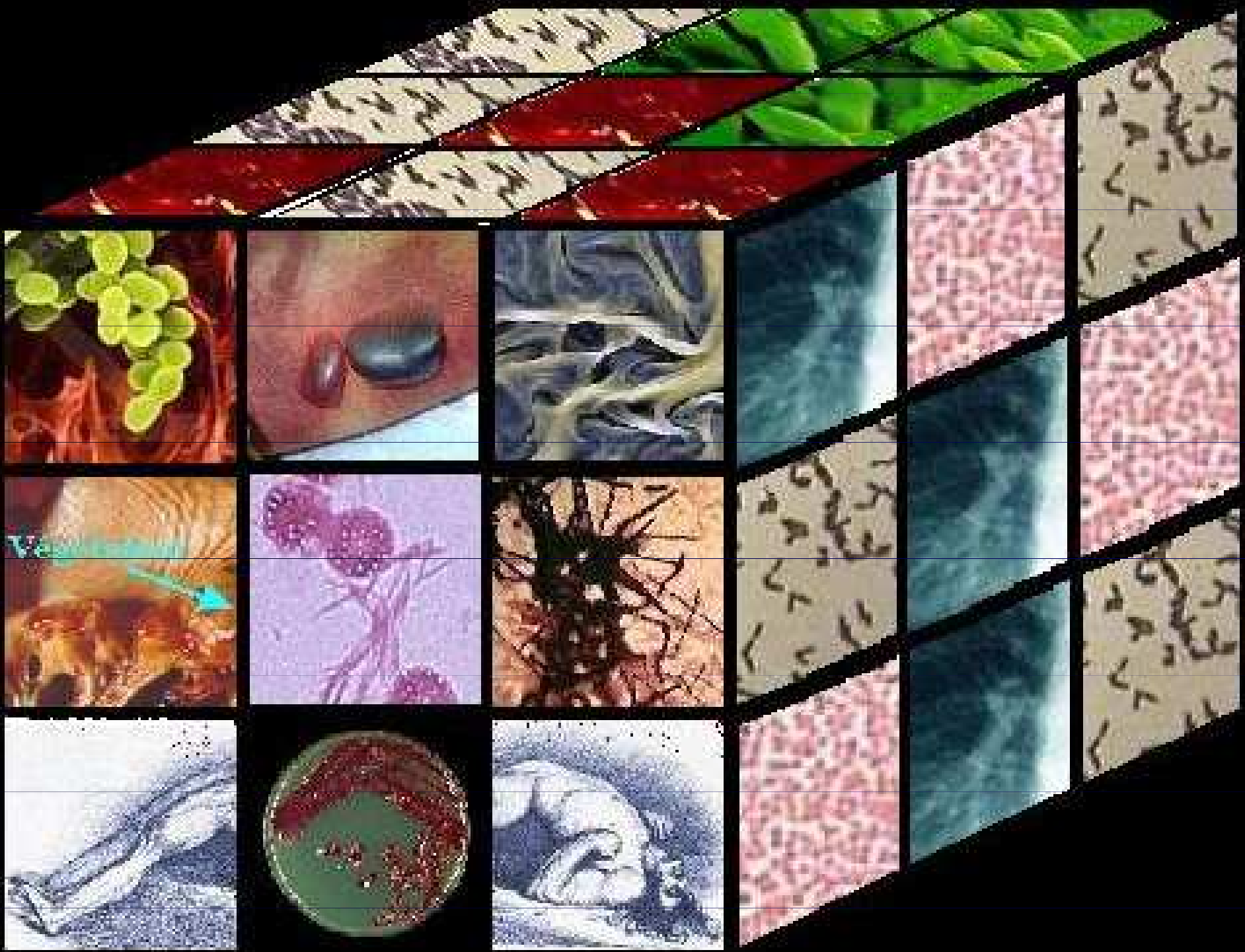
(přesněji: Klinická mikrobiologie v kostce)

MUDr. Ondřej Zahradníček

Mikrobiologický ústav lékařské fakulty

Masarykovy univerzity v Brně

a Fakultní nemocnice u svaté Anny v Brně



Abych se představil

- MUDr. Ondřej Zahradníček
- povolání: **klinický mikrobiolog**, asistent na LF MU
- to znamená, že **učím mediky** na praktických cvičeních a také je z nich zkouším
- přednášky a teoretické zkoušení zajišťuje přednosta našeho ústavu, prof. Votava
- kromě studentů všeobecného lékařství u nás učíme i **zubaře, bakalářské obory** (všeobecná sestra, porodní asistentka, zdravotní laborant) a studenty z **přírodovědecké fakulty**

Náš
ústav



Výuka

Výzkum

Provoz
(analýza
klinických
vzorků)

V naší praktikárně



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

Jak se k tomu člověk dostane

Základní mikrobiologický výzkum

Průmyslová
mikrobiologie

**Klinická
mikrobiologie**

Jiné medicínské
obory

Chemicko-
technologic.
školy

Přírodovědecké
fakulty

**Lékařské
fakulty**

Moje cesta je ta oranžová.

Virus HIV

env
Surface Glycoprotein SU
gp120

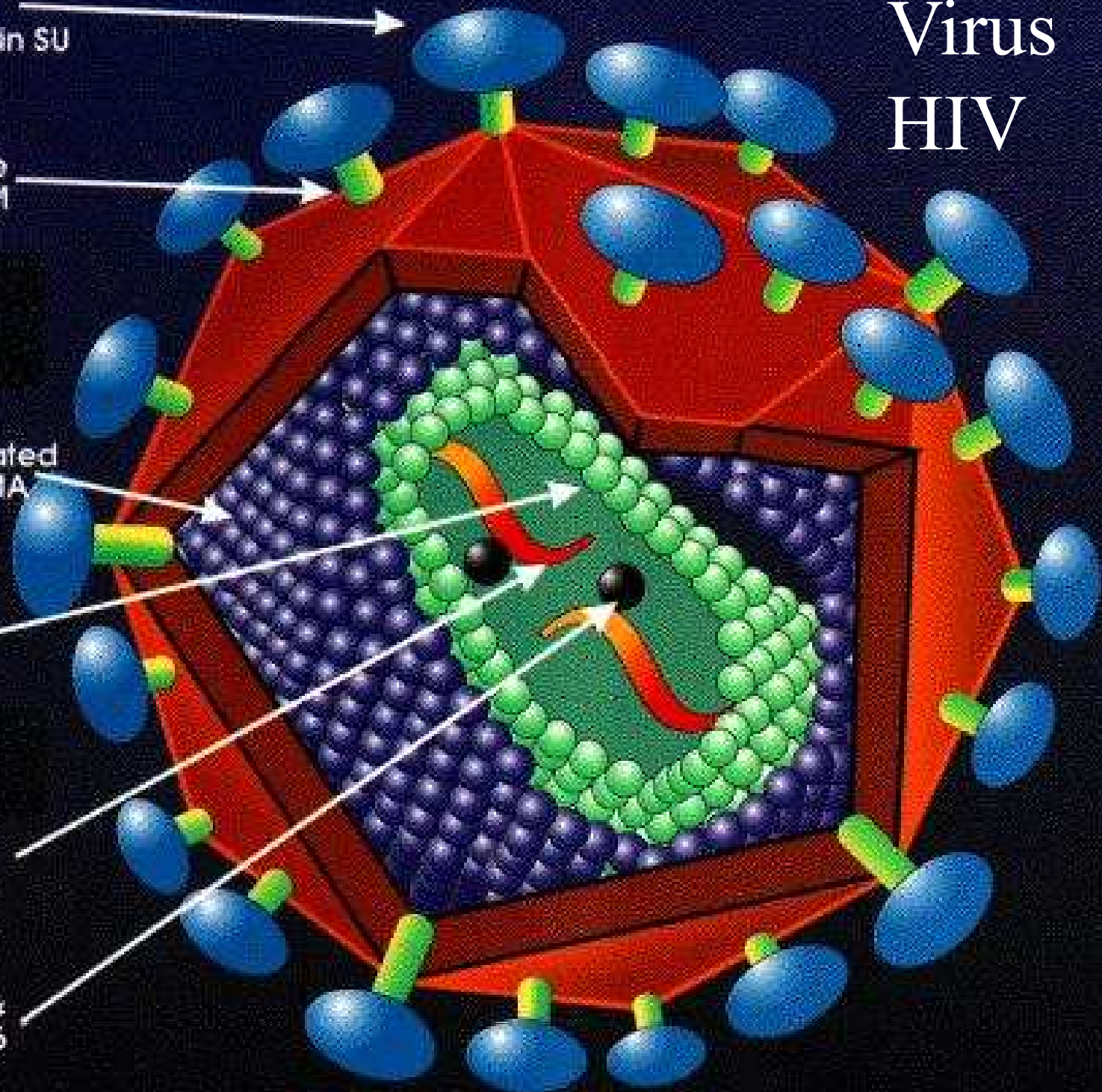
env
Transmembrane
Glycoprotein TM
gp41

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

- Povídání **o mikrobech a jejich vlastnostech**
- Povídání **o určování mikrobů a vůbec o práci v laboratoři klinické mikrobiologie**
- Představení **některých běžných a důležitých klinicky významných mikrobů**
- Odpovědi na Vaše dotazy (můžete se ale ptát i přímo k jednotlivým tématům)

Ebola



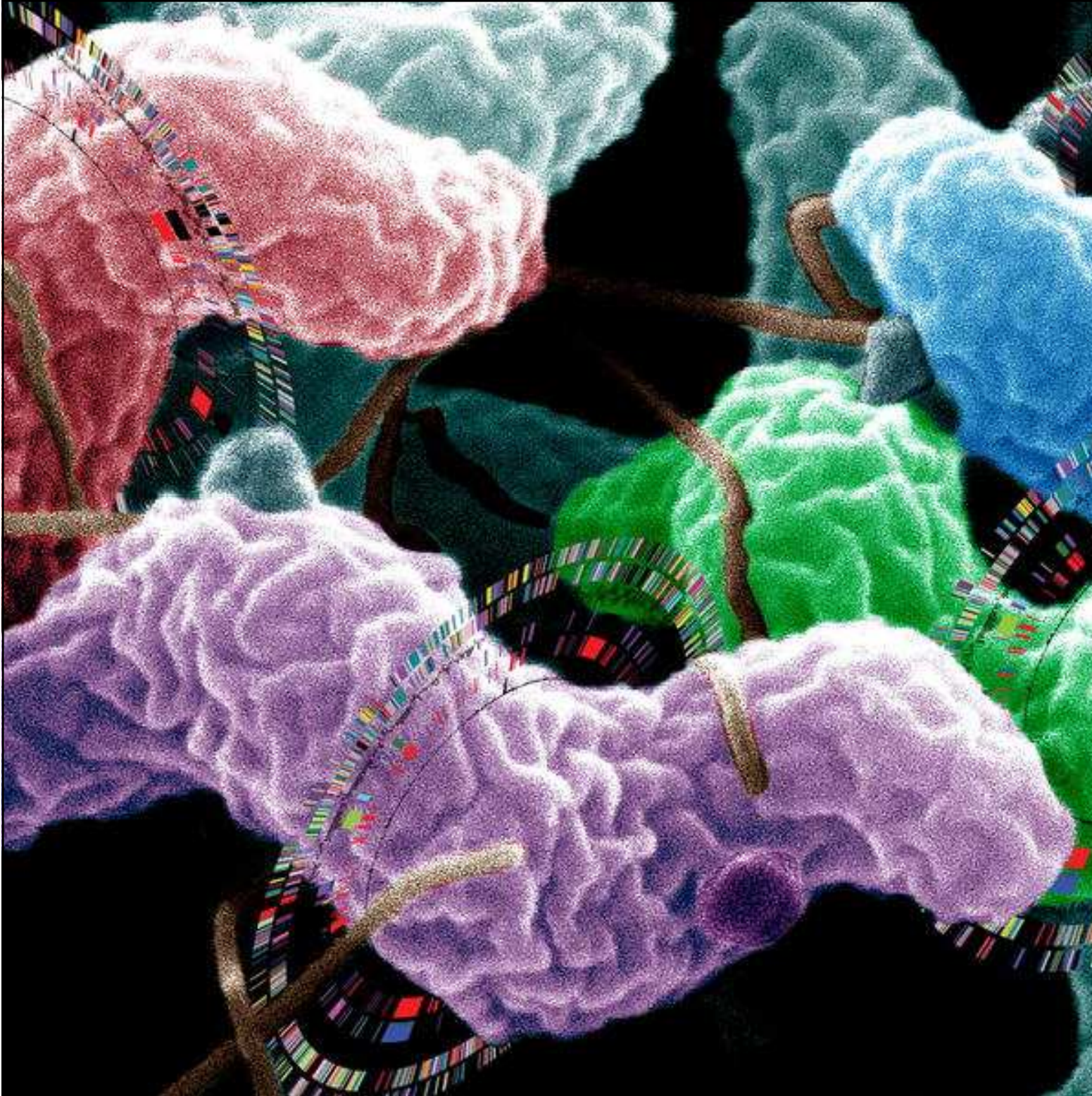
I. Mikroby a jejich vlastnosti

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

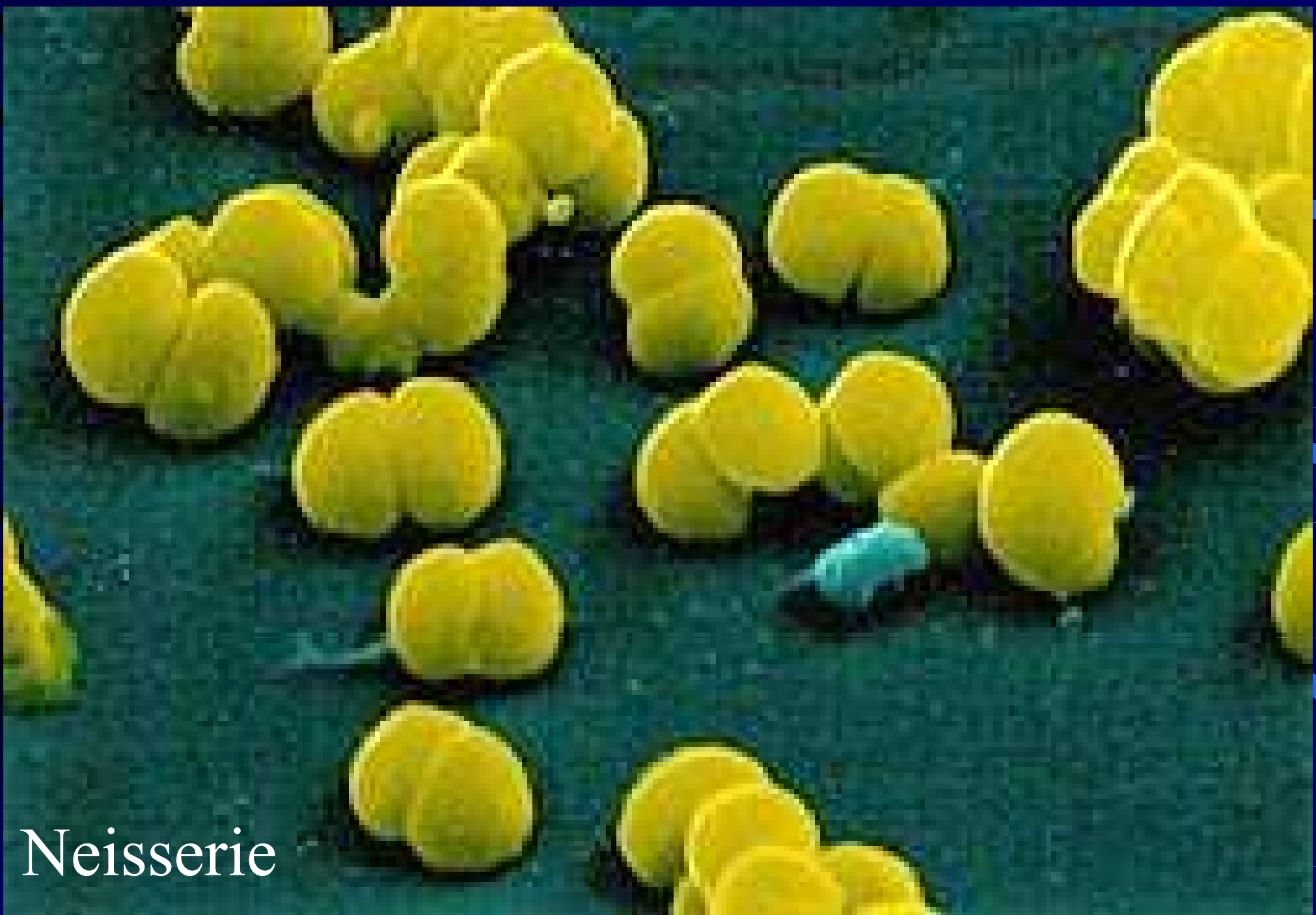


Co jsou všechno mikroby

- 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

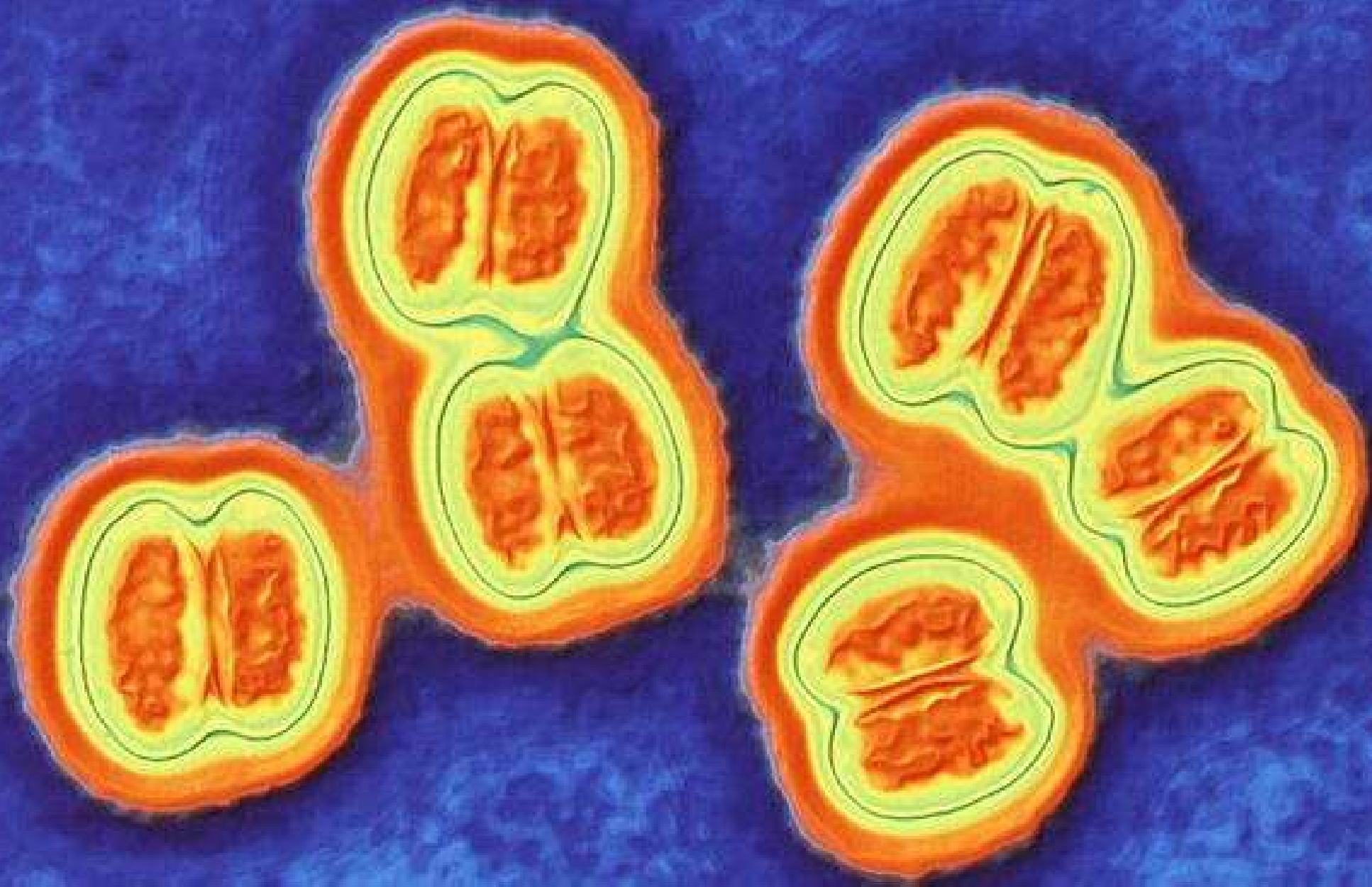
Třídění živých organismů

- **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).

Neissereria 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 dlohočlenná)
 - **Vnější paraziti** (vši, blechy, štěnice)

Co nás zajímá o mikrobech

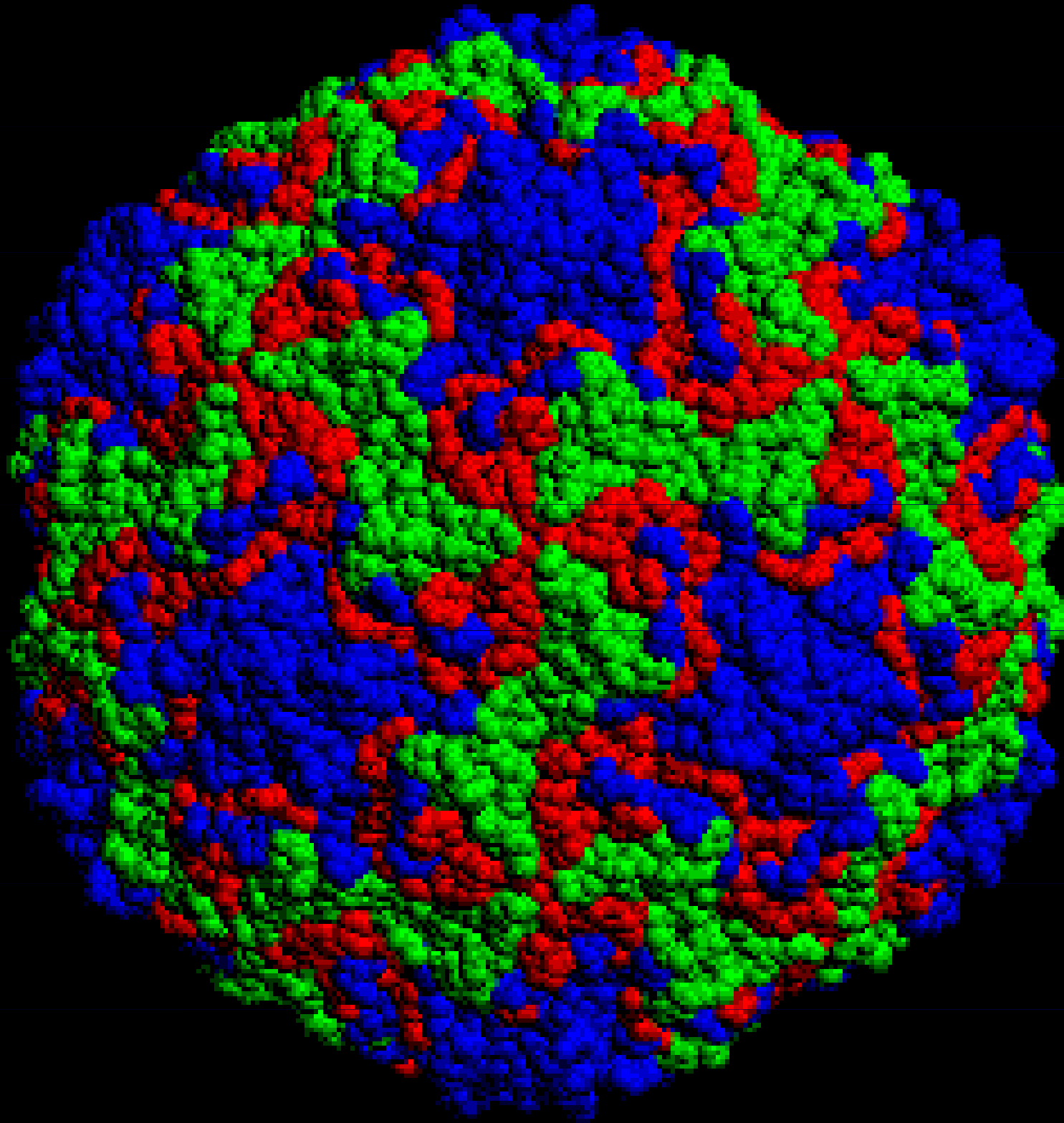
morfologie	jaký mají tvar a uspořádání
struktura	z čeho se skládají
fyziologie	jak se chovají
metabolismus	jak a čím se živí
odolnost	jak vzdorují výkyvům
klasifikace	jak jsou vzájemně příbuzné

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**

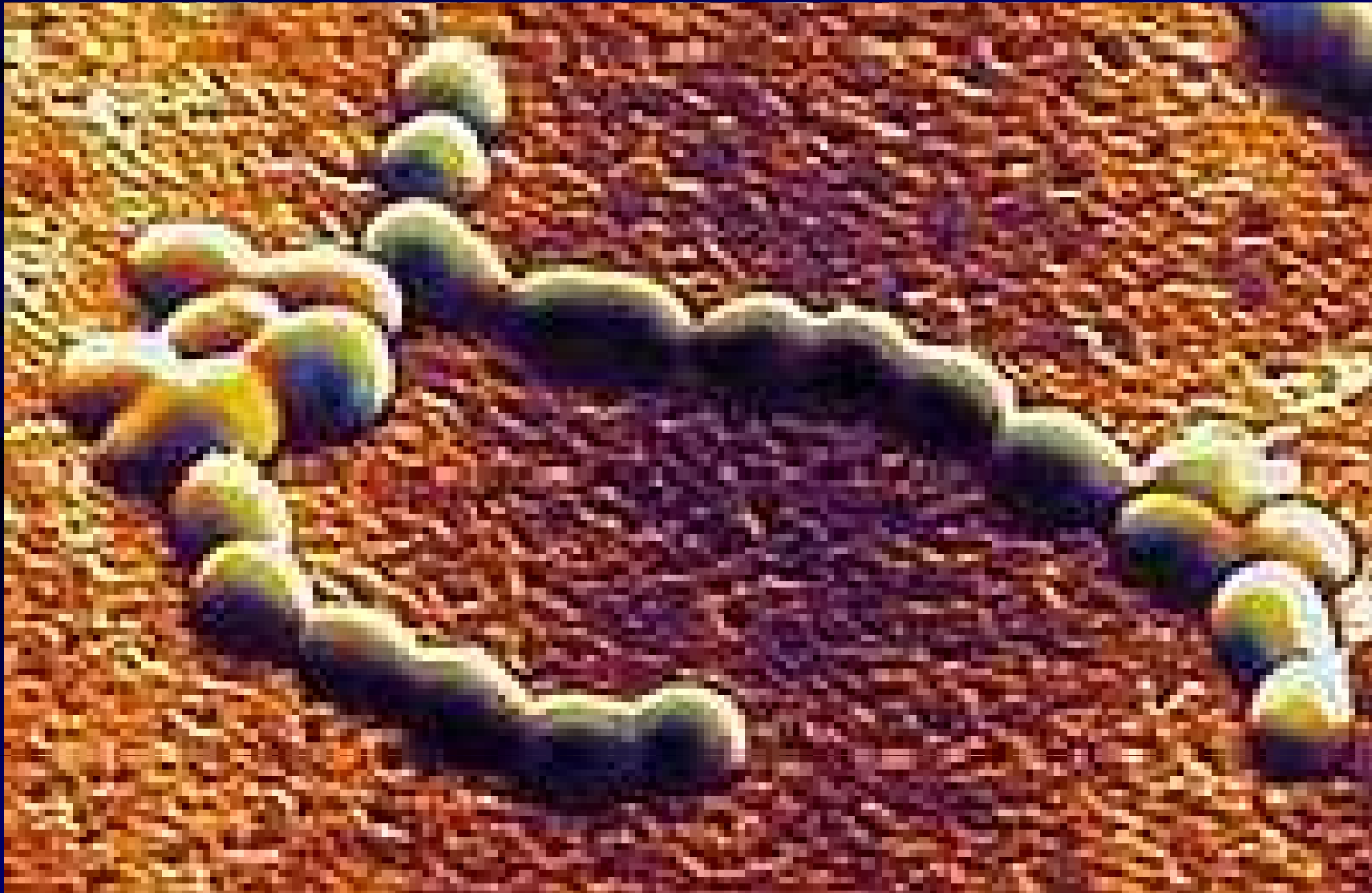


Virus
běžné
rýmy

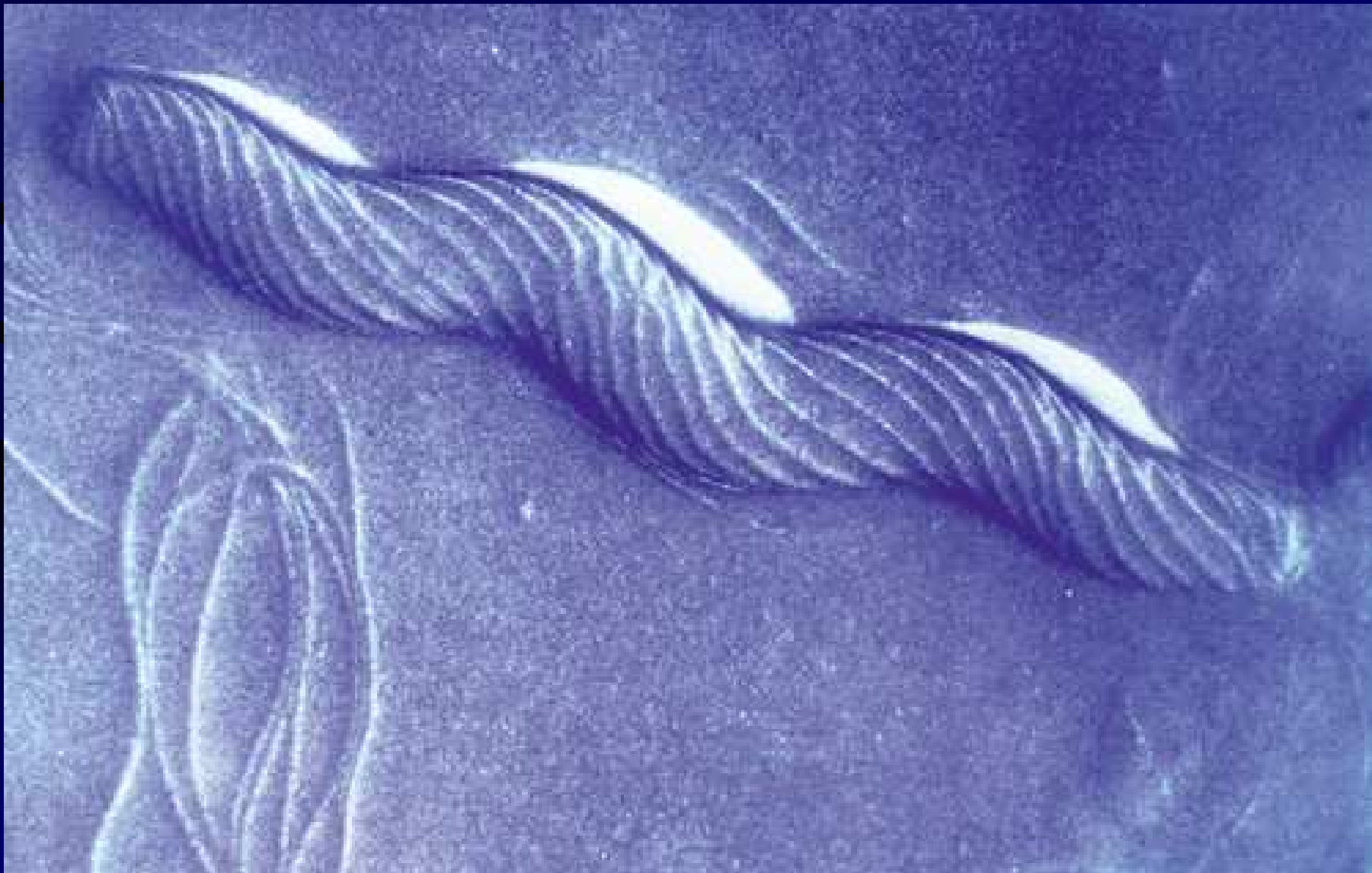
Morfologie bakterií

- **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 můžou být různě uspořádané
- **Spirochety** – tenké spirálovité bakterie
- **Beztvaré bakterie**, například mykoplasmata (nemají buněčnou stěnu, takže nemají tvar)

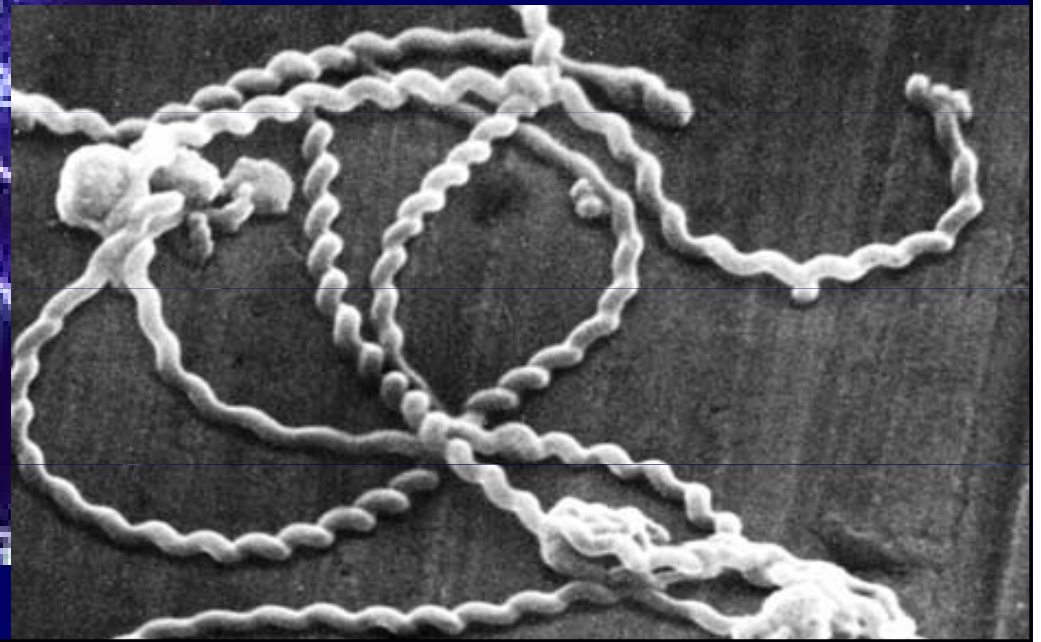
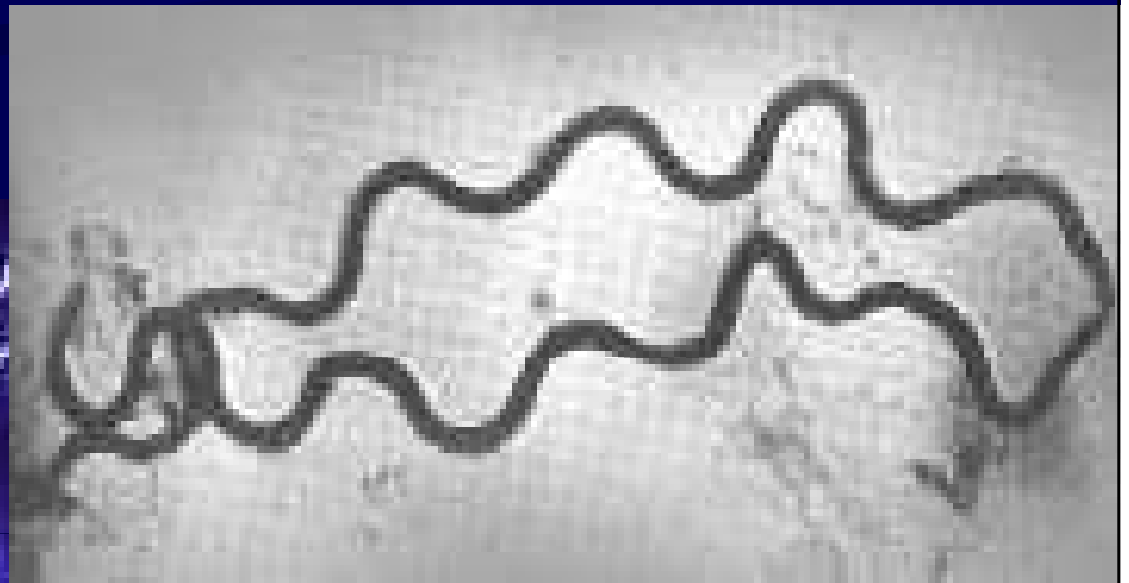
Koky v řetízcích (elektronová mikrofotografie *Enterococcus* sp.)



Zprohýbaná tyčinka – helikobakter



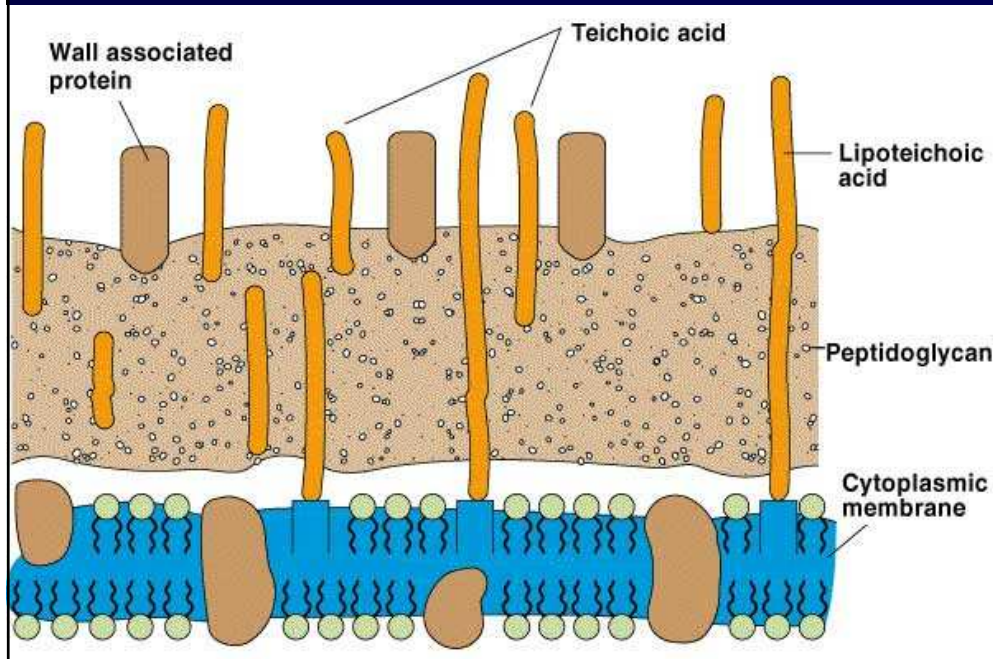
Spirochety



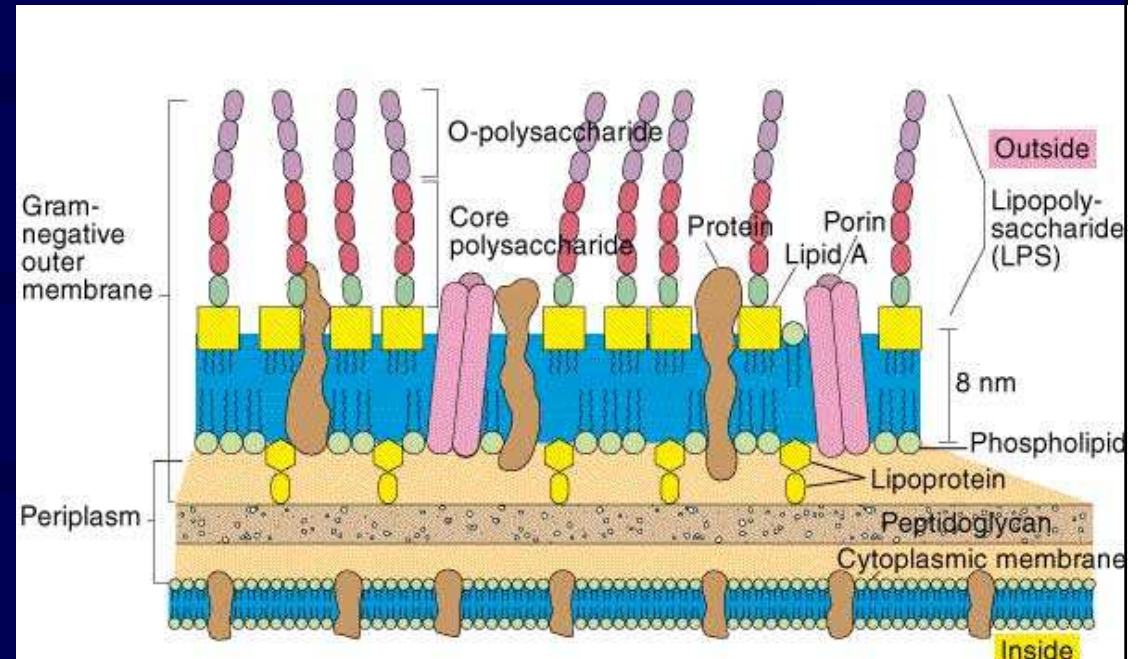
Typ buněčné stěny

- **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



G+

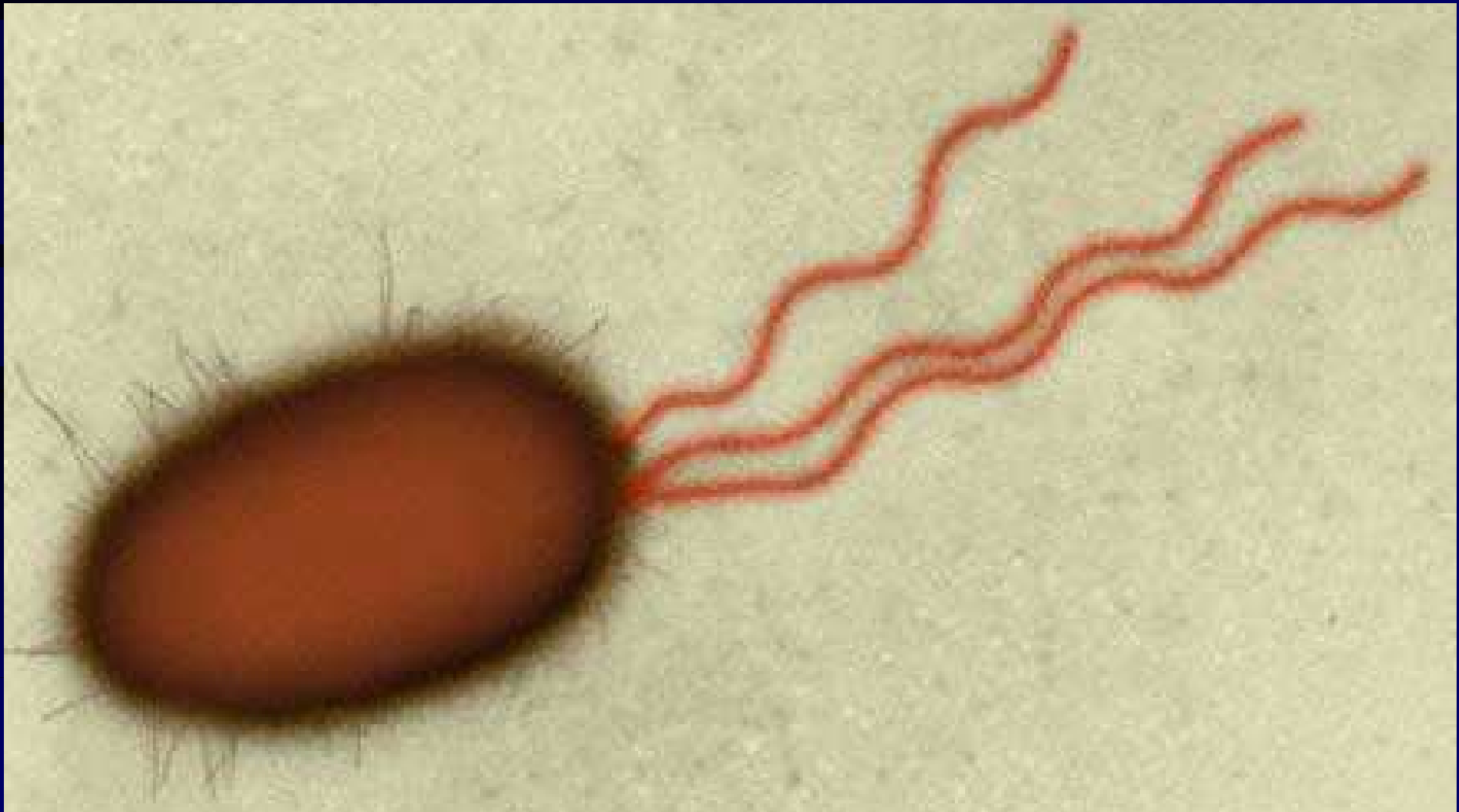


G-

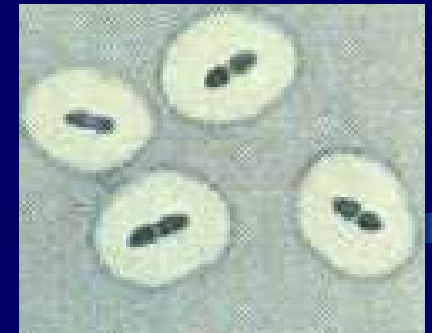
Fimbrie a bičíky

- 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*)



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** plouvoucích bakterií s povrchem



- **Přilnutí** na tento povrch



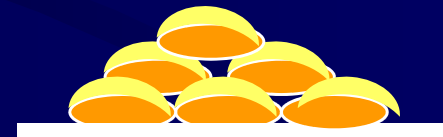
- **Růst a shlukování** těchto bakterií do mikrokolonií



- Produkce **polymerové matrix**



- Vytvoření **trojrozměrné struktury**, které se říká biofilm

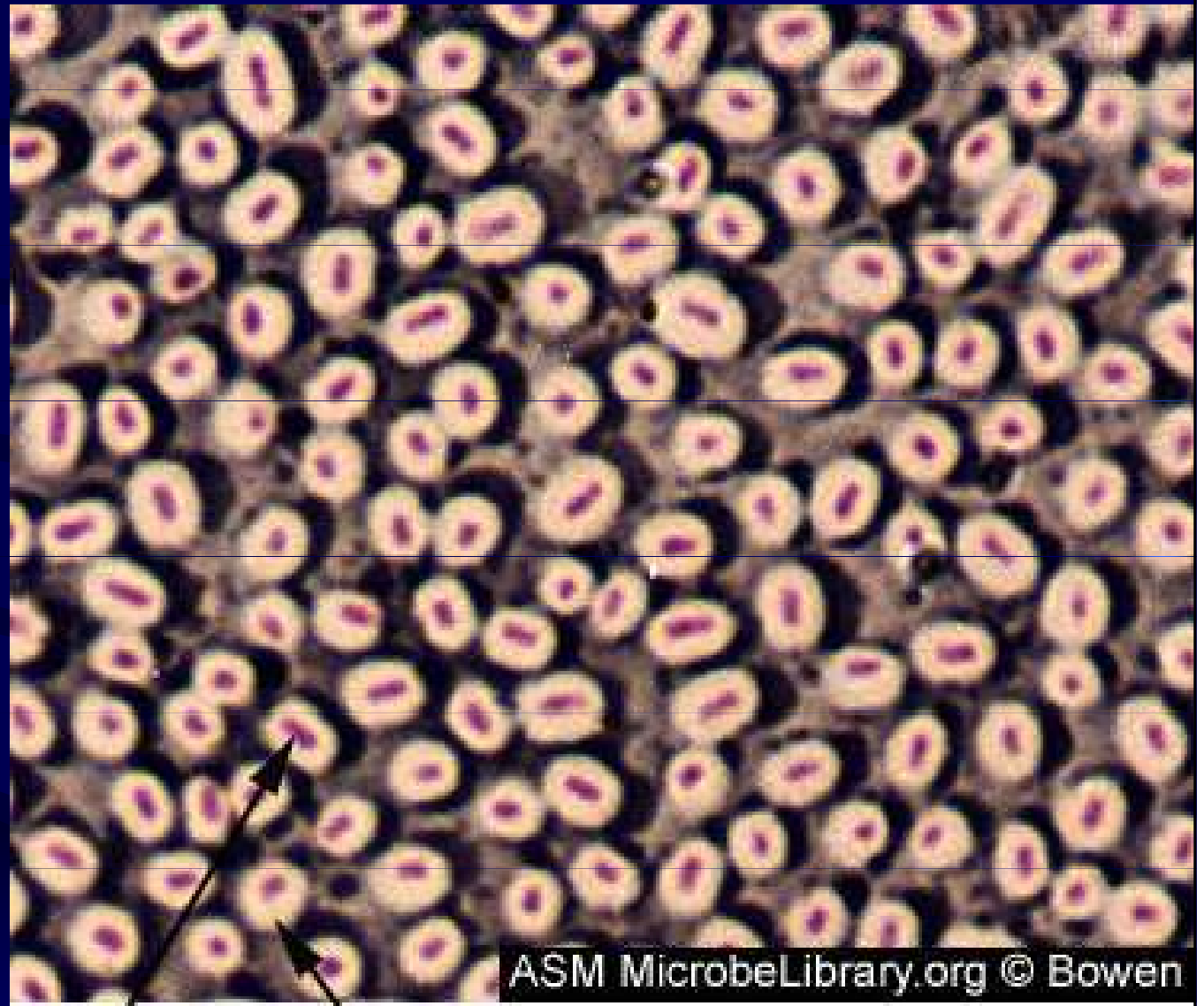


- Bakterie regulují svůj počet pomocí takzvaného **quorum sensingu**

(Podle kolegyně Černožorské z našeho ústavu)

Neobarvené pouzdro

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



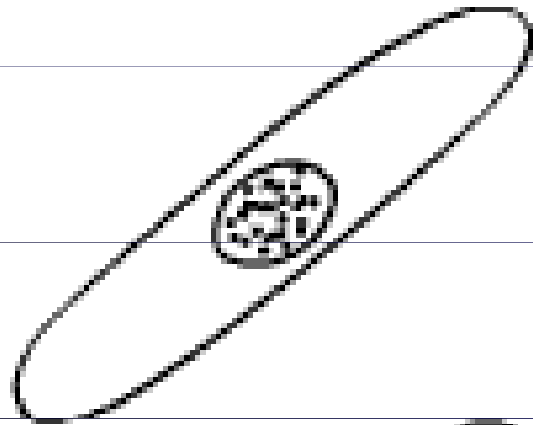
Cell

Capsule

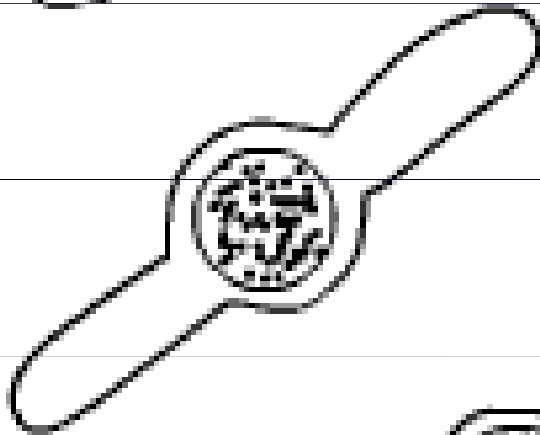
Sporulace

- Sporulace je **něco jako zimní spánek**, ale dovedený oproti zimnímu spánku zvířat k mnohem větší dokonalosti
- Spory přežijí velmi **vysoké teploty, vyschnutí, desinfekci** a podobně
- Spora vzniká jako **endospora**: buňka se rozdělí, ale neoddělí úplně: jedna část se mění ve sporu, která je zavzata do té druhé buňky
- *Neplet'me si spory bakterií a spory hub!*

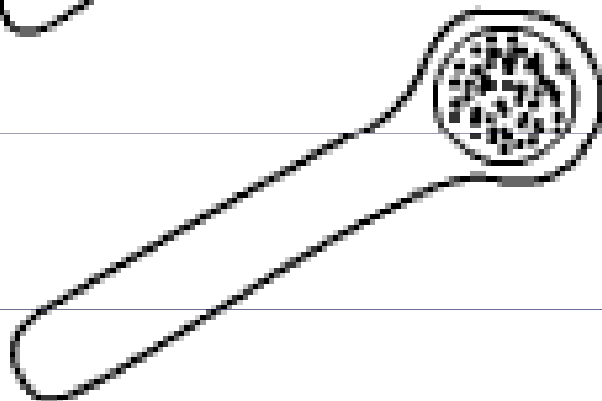
Spory různých druhů rodu *Bacillus*



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

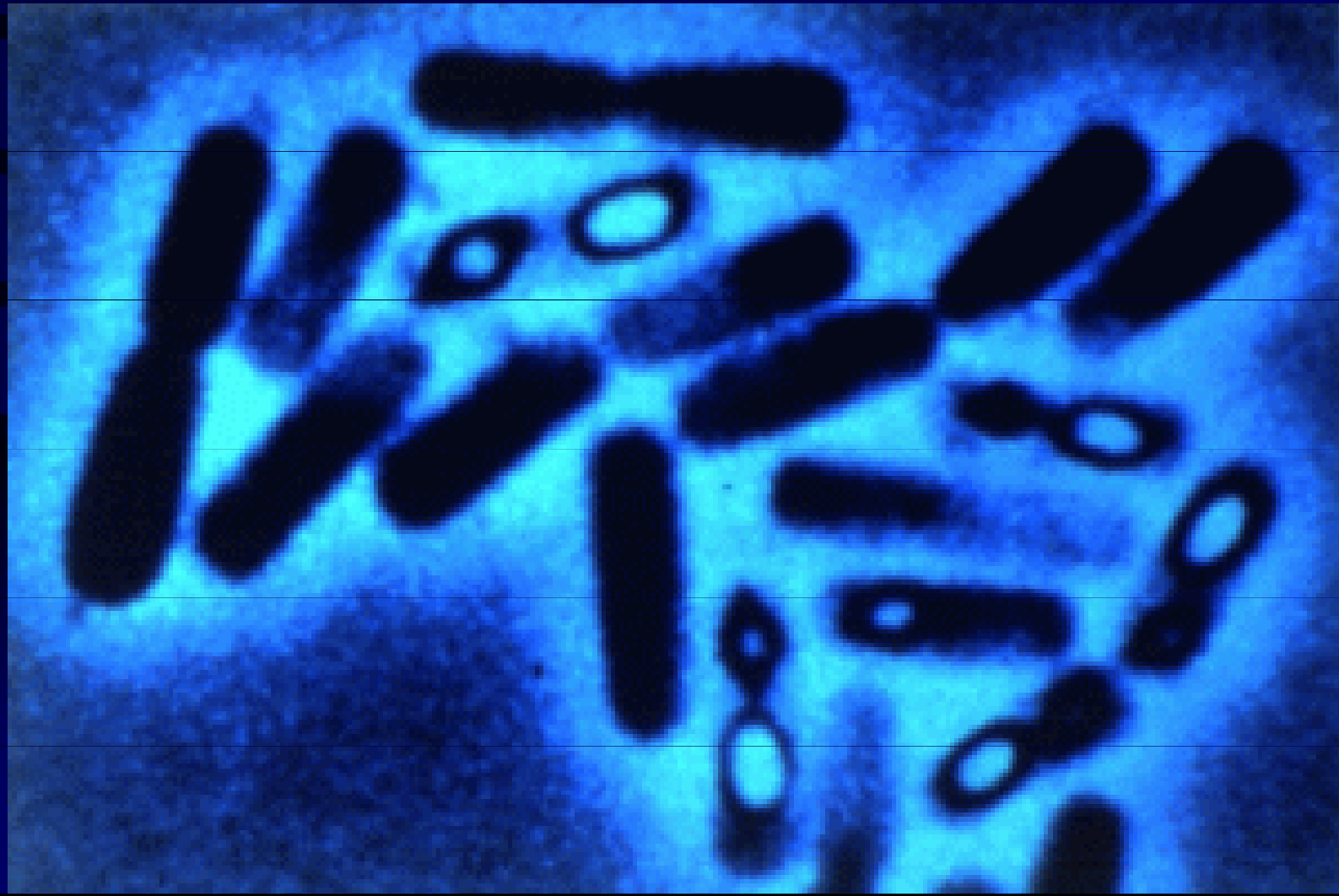


ex : *B. Polymyxa* (fixe le N₂)



ex : *B. Pasteurii* (dégrade l'Urée)

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



V jedné z našich laboratoří

Reálná růstová křivka

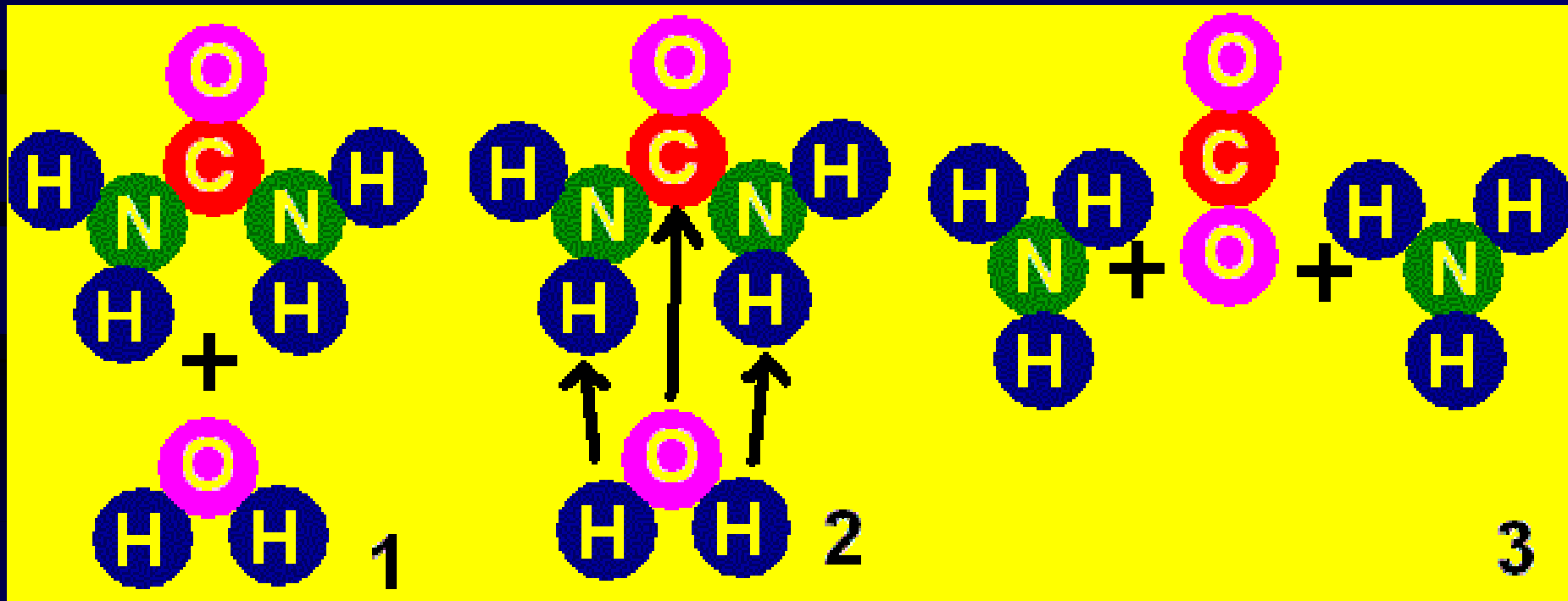
- **Fáze latence** – bakterie jsme nechali kultivovat, ale ještě jich nepřibývá
- **Fáze exponenciální** – růst se zrychluje
- **Fáze stacionární** – rostou pořád stejně rychle
- **Zpomalení a zastavení růstu** – došly živiny, je příliš mnoho odpadů, nebo bakterie samy regulují svůj počet pomocí „quorum sensingu“

Substráty

- Pro své energetické potřeby využívají bakterie různé **substráty**
- Každá bakterie má jinou **škálu substrátů**, jinou škálu biochemických reakcí, které provozuje (*tak, jako se liší i živočichové např. schopností / neschopností vyrábět si vitamín C*)
- Tyto rozdíly lze velice dobře využívat **při určování bakterií** – víme, že bakterie, která má štěpí substráty B, F, L, M, P, S, V, Z a neštěpí H, Ch, K, R, D, T, N musí být bakterie *X. ypsilon*

Příklad – štěpení močoviny u helikobaktektera

- Tato reakce umožňuje helikobakterům přežít ve vysoce kyselém prostředí žaludeční sliznice



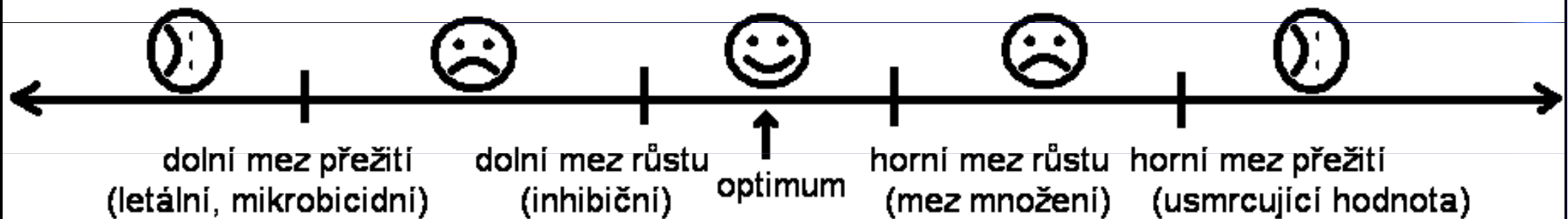
- CO₂ vyprchá, kdežto NH₃ (NH₄OH) zůstává a alkalizuje mikroprostředí kolem bakterie

Životní podmínky bakterií „in vivo“ (za živa) i „in vitro“ (na Petriho misce)

- 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**.

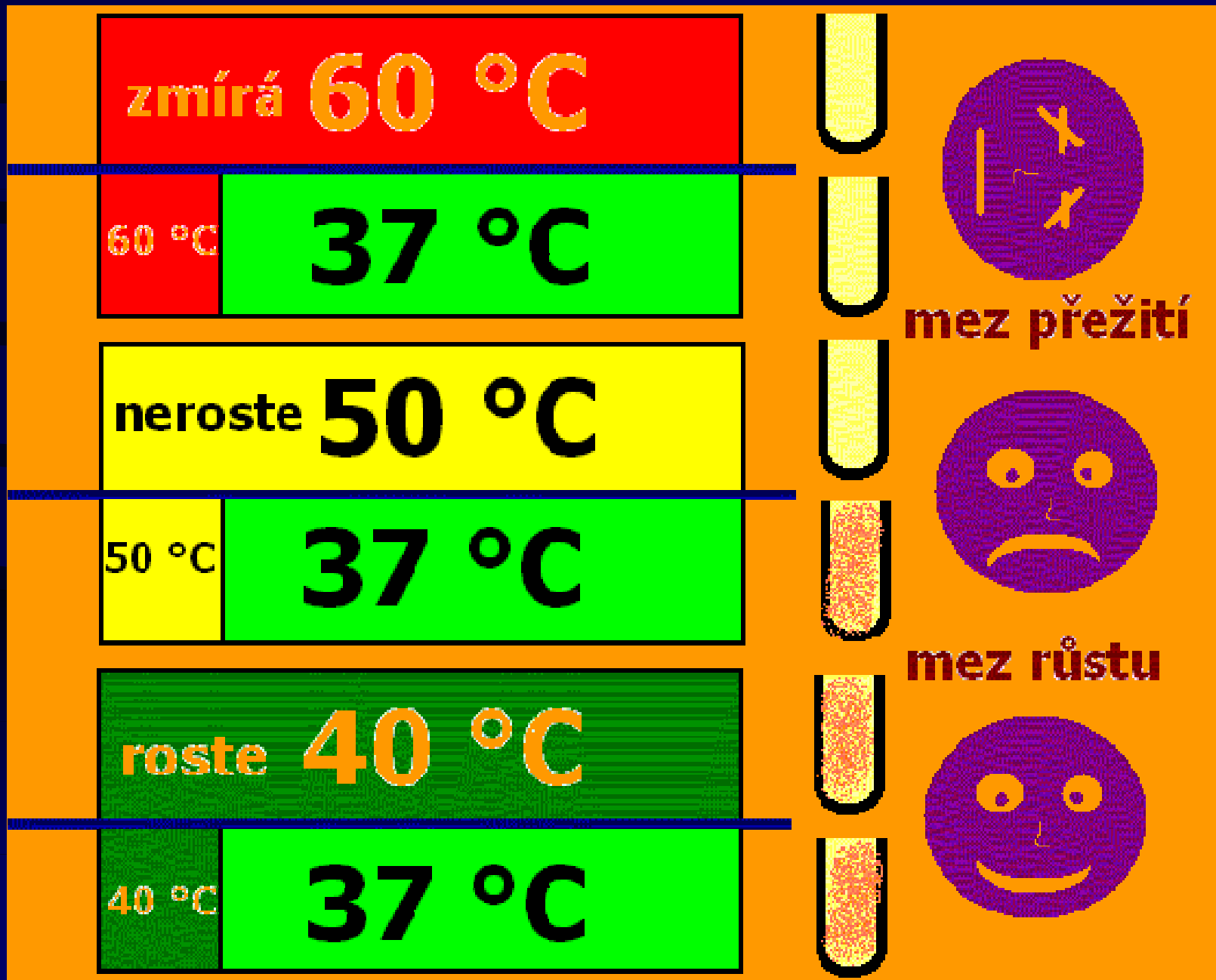
Životní podmínky – pokračování

- 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)

Přestat růst ještě neznamená hynout



Důležitým faktorem je vždy čas...



Mikroby a makroorganismus

- 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**
- Z potravního hlediska může jít o **komensalismus, saprofytismus** nebo **parazitismus**
- **Ne vždycky se dají mikroby jednoduše „zaškatulkovat“**. Často záleží na okolnostech, jestli bude mikrob „zlý“ nebo „hodný“

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 **obligtně patogenní**, které vyvolávají nemoc vždy, když se dotanou do těla v dostatečném počtu a vhodným způsobem

Virulence mikrobů

- Virulence se dá pochopit jako **míra patogenity organismu**. Podmíněně patogenní druh mikroba může zahrnovat kmeny virulentnější a méně virulentní
- Virulence může být dána například **produkcí toxinů, schopností přilnout na sliznici** (třeba i ve formě biofilmu) či **schopností vniknout do tkání**.

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
ne strávených 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.

Jak bojujeme s mikroby

- **Dekontaminační metody** (desinfekce a sterilizace) likvidují mikroby ve vnějším prostředí. Využívají poměrně jednoduché fyzikální a chemické principy (teplo, záření, oxidační činidla, tenzidy)
- **Antimikrobiální látky** likvidují mikroby uvnitř mikroorganismu. Mechanismy působení musí být mnohem jemnější a specifičtější
- **Imunizace (pasivní a aktivní)** využívá přirozené obranyschopnosti organismu

Sterilizace × desinfekce

- **Sterilizace** je postup, který vede ke sterilitě, tj. ničí všechny formy života. Je zbytečné uvádět v definici „včetně spór“ – když všechny, tak zkrátka všechny, i cysty parazitů, houby, neobalené viry, zkrátka všechno.
- **Desinfekce** je postup, který ničí patogeny přítomné v daném prostředí. Protože spektrum patogenů je jiné v ordinaci praktického lékaře a jiné v TBC léčebně, je jiná i správné desinfekce.
- **Oproti klasickým představám existuje i chemická sterilizace a fyzikální desinfekce.**



Antimikrobiální látky

- Na rozdíl od desinfekce **nemusí vždy mikroby usmrcovat**, ale stačí, když potlačí jejich množení. Se zbylými mikroby už si pak tělo většinou poradí samo
- Toto ale **neplatí u pacientů v těžkém stavu**. U těch nestačí látky, které zastavují růst (mikrobistatické) a jsou potřeba látky, které mikroby usmrcují (mikrobicidní)

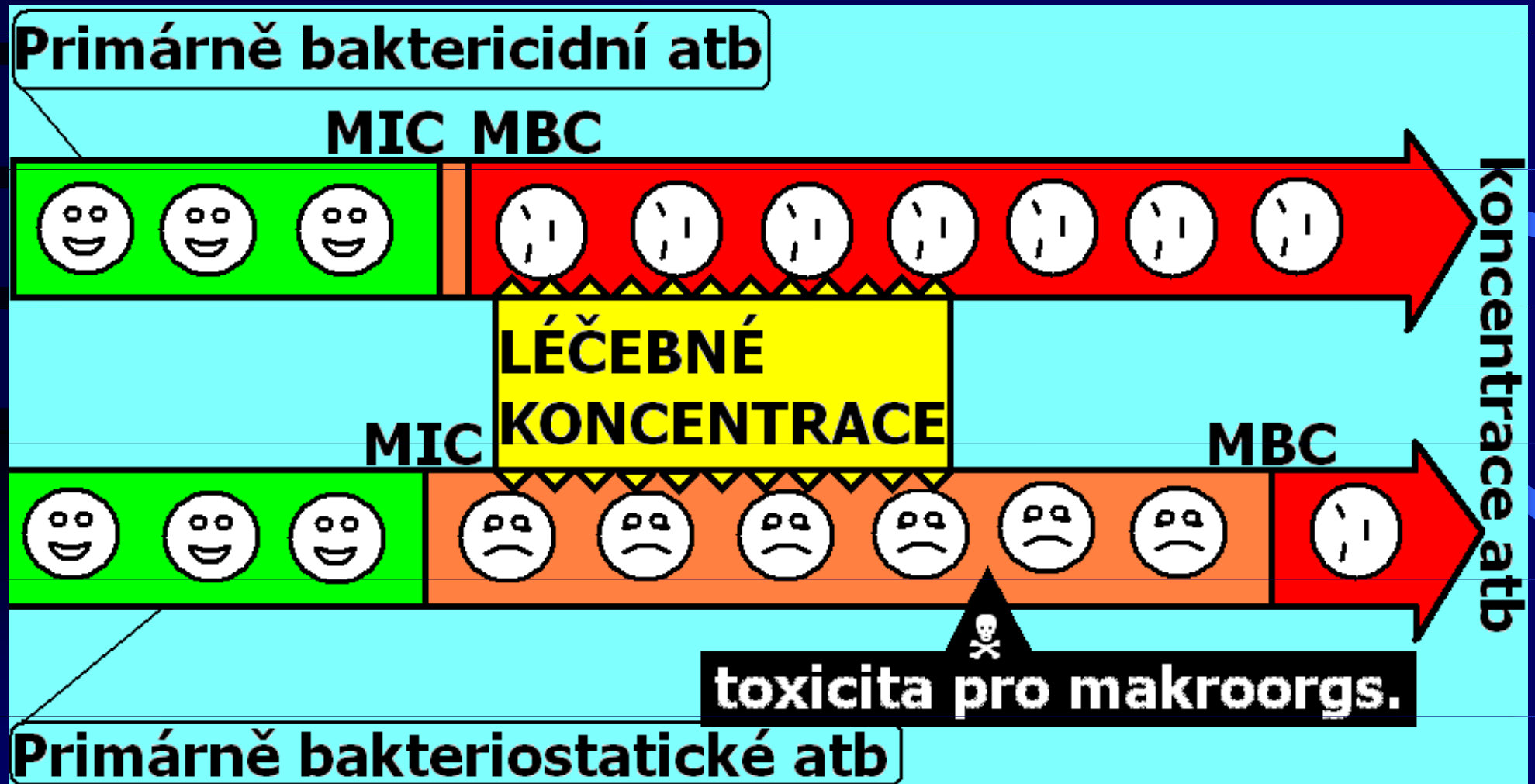
Druhy antimikrobiálních látek

- Látky působící celkově:
 - Antiparazitární látky proti parazitům
 - Antimykotika proti kvasinkám a vláknitým houbám
 - Antivirotika proti virům
 - Antituberkulóza proti mykobakteriím
 - Antibiotika proti bakteriím (přírodního původu)
 - Antibakteriální chemoterapeutika také proti bakteriím, ale syntetická

V poslední době se stírají rozdíly mezi posledními dvěma
- Látky působící lokálně: antiseptika



Primárně baktericidní a primárně bakteriostatická antibiotika



Imunizace - princip

- Imunizace je postup, při kterém do těla podáme protilátky (pasivní imunizace), anebo tělo povzbudíme k jejich tvorbě (aktivní imunizace)
- Hladovému muži na břehu řeky
 - nachytáme ryby – pasivní imunizace
 - pomůžeme, aby se naučil ryby chytat – aktivní imunizace
 - někdy kombinujeme obojí

Pasivní imunizace

- Do organismu jsou vneseny už hotové protilátky nebo sérum, které je obsahuje.
- **Nevýhoda:** protilátky od cizího člověka nikdy nejsou stejné, fungují méně účinně a postupně se jich tělo zbavuje (krátkodobý účinek)
- **Výhoda:** organismus je chráněn okamžitě. Nevýhodu krátkodobého účinku lze odstranit, pokud pasivní imunizaci zkombinujeme s pasivní (například u tetanu)

Aktivní imunizace

- **Aktivní imunizace = očkování:** do organismu je vnesena očkovací látka, obsahující tzv. antigen. Tělo je antigenem "vyprovokováno" a vytváří protilátky.
- **Očkování proti TBC – výjimka:** cílem zde není vyvolat tvorbu protilátek, ale tvorbu buněčné imunity, což souvisí se zvláštními mechanismy u TBC infekce

Očkování velice pomáhá
při boji s mnohými
nemocemi u nás i ve světě



II. Určování
mikrobů, práce
laboratoře
klinické
mikrobiologie

Diagnostika: průkaz a určování bakterií

- **Klinická mikrobiologie v praxi** spočívá v tom, že **lékař** (ať už je to obvodní lékař, ambulantní specialista či lékař z kteréhokoli oddělení nemocnice) **pošle do laboratoře vzorek**
- **Úkolem klinickomikrobiologické laboratoře je prokázat** v takovém vzorku případnou **přítomnost mikrobů** a pokud tam jsou, tak je také **určit**.
- Určení nemusí být přesné, ale musí poskytnout **dostatek informací pro léčbu**

Pojmy vzorek a kmen

Vzorek je to, co je odebráno pacientovi a přichází na vyšetření do laboratoře:

- **kusový či tekutý materiál ve zkumavce** či jiné nádobce (krev, sérum, moč...)
- **stěr či výtěr na vatovém tamponu**, obvykle zanořeném do transportního média.

Kmen je čistá kultura („výpěstek“) jednoho druhu mikroba

Kmen získáme jedině kultivací (pěstováním) mikroba na pevné půdě.

Kochův objev, že bakterie lze takto pěstovat, měl zásadní význam v dějinách mikrobiologie.

Přehled metod

- **Metody přímé**

- **Hledáme mikroba, jeho část či jeho produkt** (například nějaký bakteriální jed – toxin)
- **Přímý průkaz ve vzorku** – pracujeme s celým vzorkem (močí, krví, výtěrem z krku a podobně)
- **Identifikace kmene** – určení vypěstovaného izolátu

- **Metody nepřímé**

- **Hledáme protilátky**. Protilátka není součástí ani produktem mikroba – je produktem makroorganismu, odezvou na činnost mikroba

Přehled metod přímého průkazu

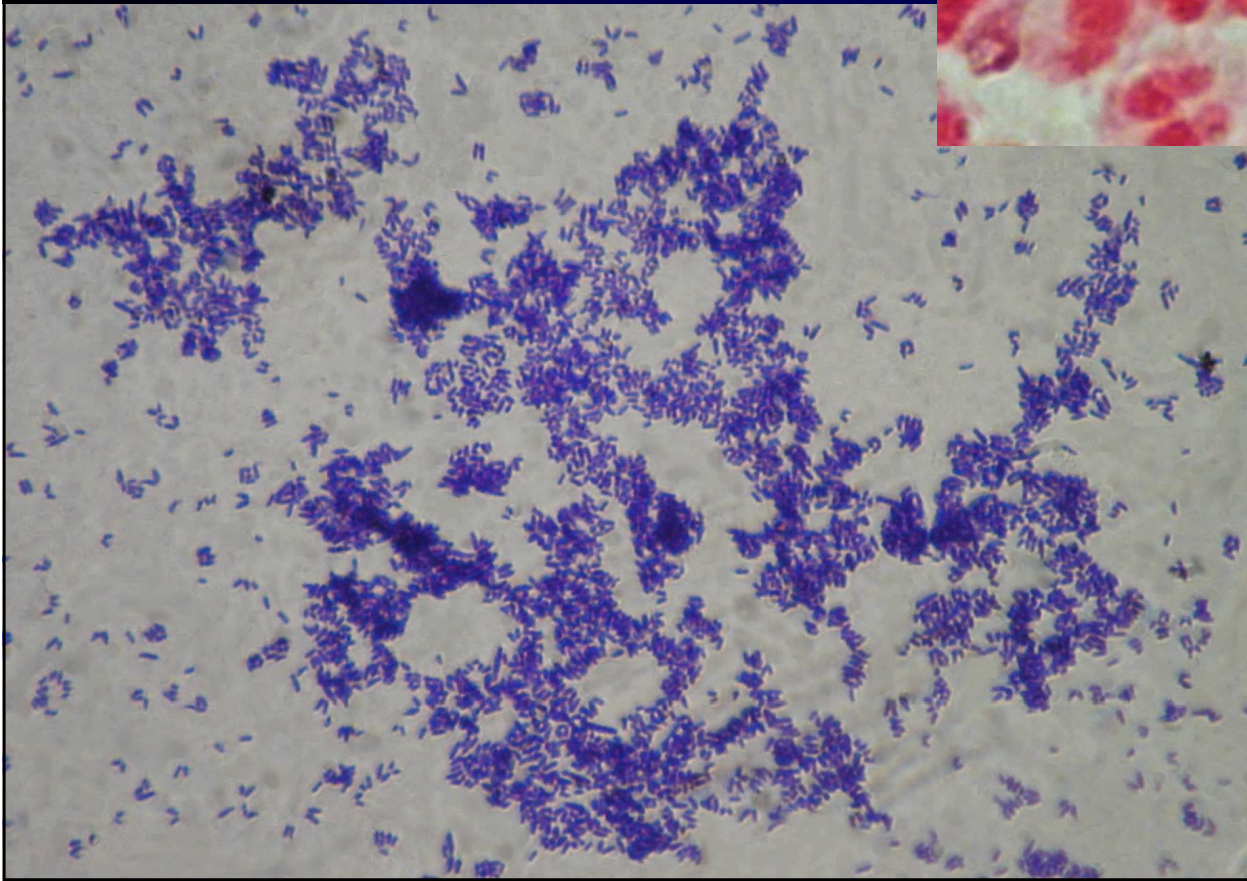
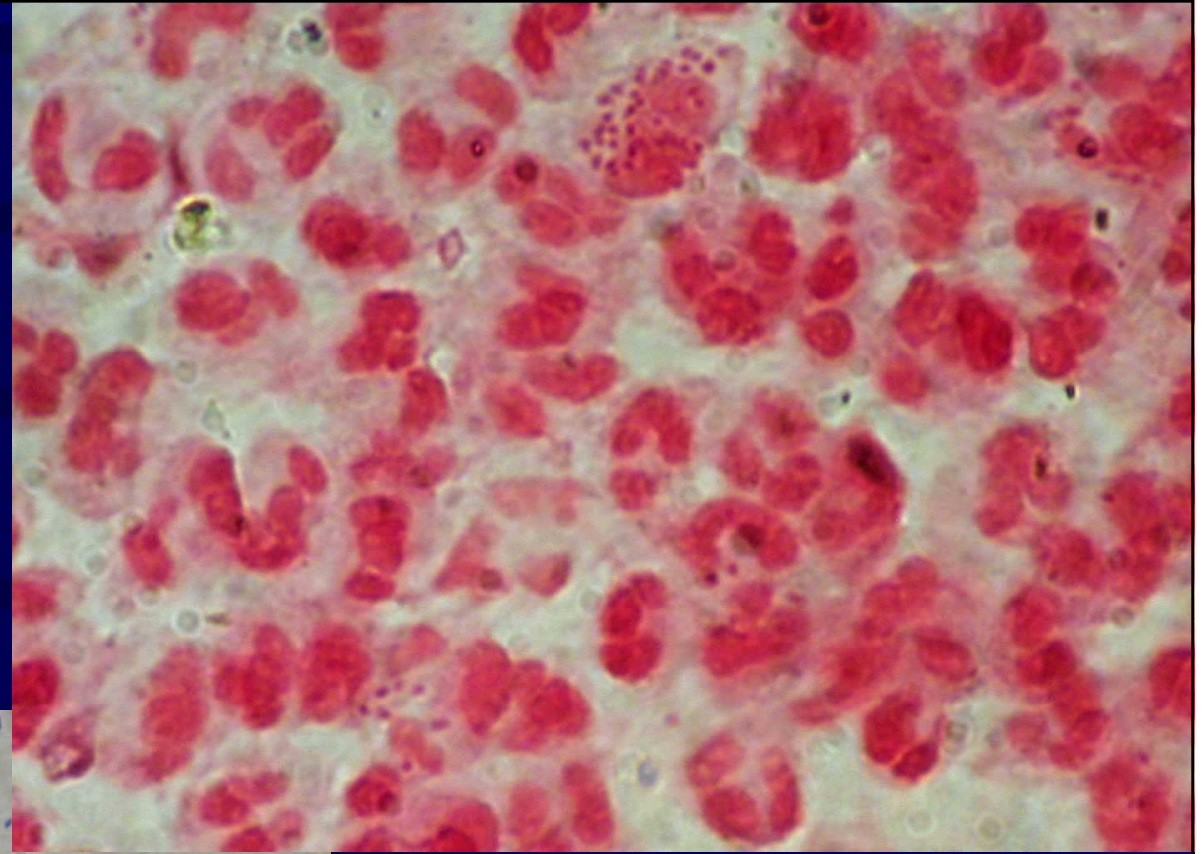
Metoda	Průkaz ve vzorku	Identifikace
Mikroskopie	ano	ano
Kultivace	ano	ano
Biochemická identifikace	ne	ano
Průkaz antigenu	ano	ano
Pokus na zvířeti	ano	v praxi ne
Molekulární metody	ano	v praxi ne*

*netýká se molekulární epidemiologie – sledování příbuznosti kmenů

Mikroskopie

- **Pozorujeme mikroby, u vzorku i buňky hostitelského organismu** (epitelie, leukocyty a podobně)
- **Nativní preparát** - na velké a/nebo pohyblivé mikroby
- **Nativní preparát v zástinu** (hlavně spirochety)
- **Fixované a barvené preparáty** – barvení podle Grama, podle Giemsy, podle Ziehl Neelsena (použití pro různé skupiny bakterií, hub či parazitů)
- **Elektronová mikroskopie** – u virů; spíše výzkum než při běžném průkazu virů

Mikroskopie vzorku



Mikroskopie kmene

Kultivace (pěstování) bakterií (případně také kvasinek)

- Bakterie často **pěstujeme na umělých půdách**
- Bakterie na půdu **naočkujeme a poté půdu umístíme do termostatu**, většinou nastaveného na 37 °C (pro bakterie významné pro člověka je to většinou optimální teplota – což má logiku)
- Za 24 (někdy až 48) hodin **půdu vytáhneme a pozorujeme, jak nám bakterie vyrostly**
- **Vláknité houby** se pěstují mnohem déle
- **Viry a paraziti** se většinou vůbec nepěstují

Kultivace bakterií – podmínky

- Bakteriím musíme připravit **přijatelné vnější podmínky** – teplotu, vlhkost apod.
- Některé jsou dány **nastavením termostatu**, jiné **složením kultivační půdy**
- Používáme **různá kultivační média**, sloužící k určitým účelům
- **Aerobní a fakultativně anaerobní** bakterie můžeme pěstovat za normální atmosféry
- **Striktně anaerobní bakterie** vyžadují atmosféru bez kyslíku. **Kapnofilní** zase zvýšený podíl CO₂.

Nas

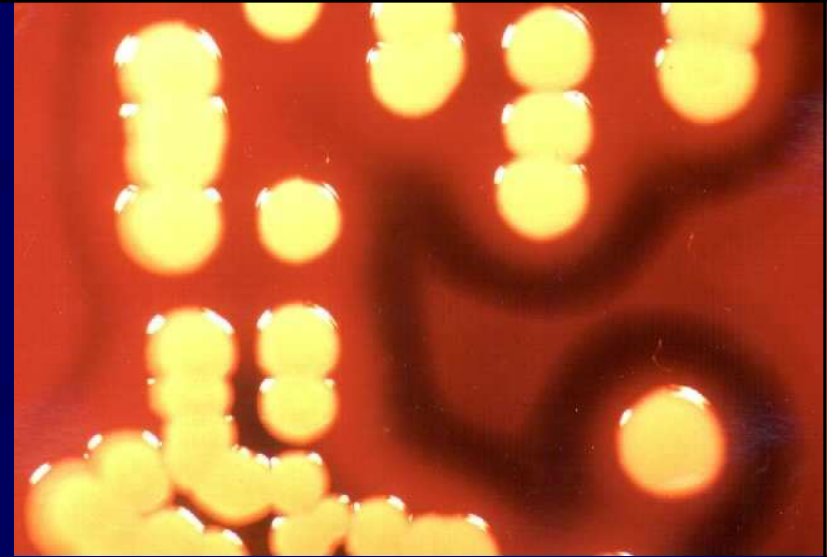
Připravené kultivační
půdy se uchovávají
v chladničce



Smysl kultivace bakterií

- Proč vlastně v laboratoři bakterie pěstujeme?
 - Abychom je **udrželi při životě a pomnožili**. K tomu slouží kultivace na tekutých půdách i na „pevných“ půdách (to jsou půdy, které netečou, jejich základem je většinou agarová řasa)
 - Abychom získali **kmen** – pouze pevné půdy
 - Abychom je vzájemně **odlišili a oddělili** – používají se diagnostické a selektivní půdy, sloužící k identifikaci

Pojem kolonie



- Kolonie je **útvár na povrchu pevné půdy**. Pochází z jedné buňky nebo malé skupinky buněk (dvojice, řetízku, shluku)
- V některých případech můžeme z počtu kolonií **odhadnout počet mikrobů** ve vzorku – nebo přesněji počet „kolonii tvořících jednotek“ (CFU)
- Popis kolonií má významné místo v diagnostice

Kultivace v praxi

- Vzorek se vloží do **tekuté půdy** nebo nanese **na pevnou půdu**
- U pevné půdy se ho snažíme tzv. **mikrobiologickou kličkou** rozředit, abychom získali **jednotlivé kolonie** a mohli dále pracovat s kmeny mikrobů
- **Tekuté půdy**
 - jsou půdy pomnožovací
 - základem je zpravidla hovězí vývar a bílkovinný hydrolyzát
 - nejdůležitější je peptonová voda, bujón, VL-bujón, selenitový bujón (selektivně pomnožovací)

Tekuté půdy



Pevné (agarové) půdy

- Základem je opět masopeptonový bujón, ale navíc obsahují výtažek z agarové řasy. Používala se i želatina, ale neosvědčila se tolik jako agar.
- Abychom využili všech výhod, které pevné půdy nabízejí, musíme vzorek (kultivace vzorek → kmen), ale i kmen (kultivace kmen → kmen) dobře rozočkovat. Klasickým způsobem rozočkování je tzv. **křížový roztěr**.

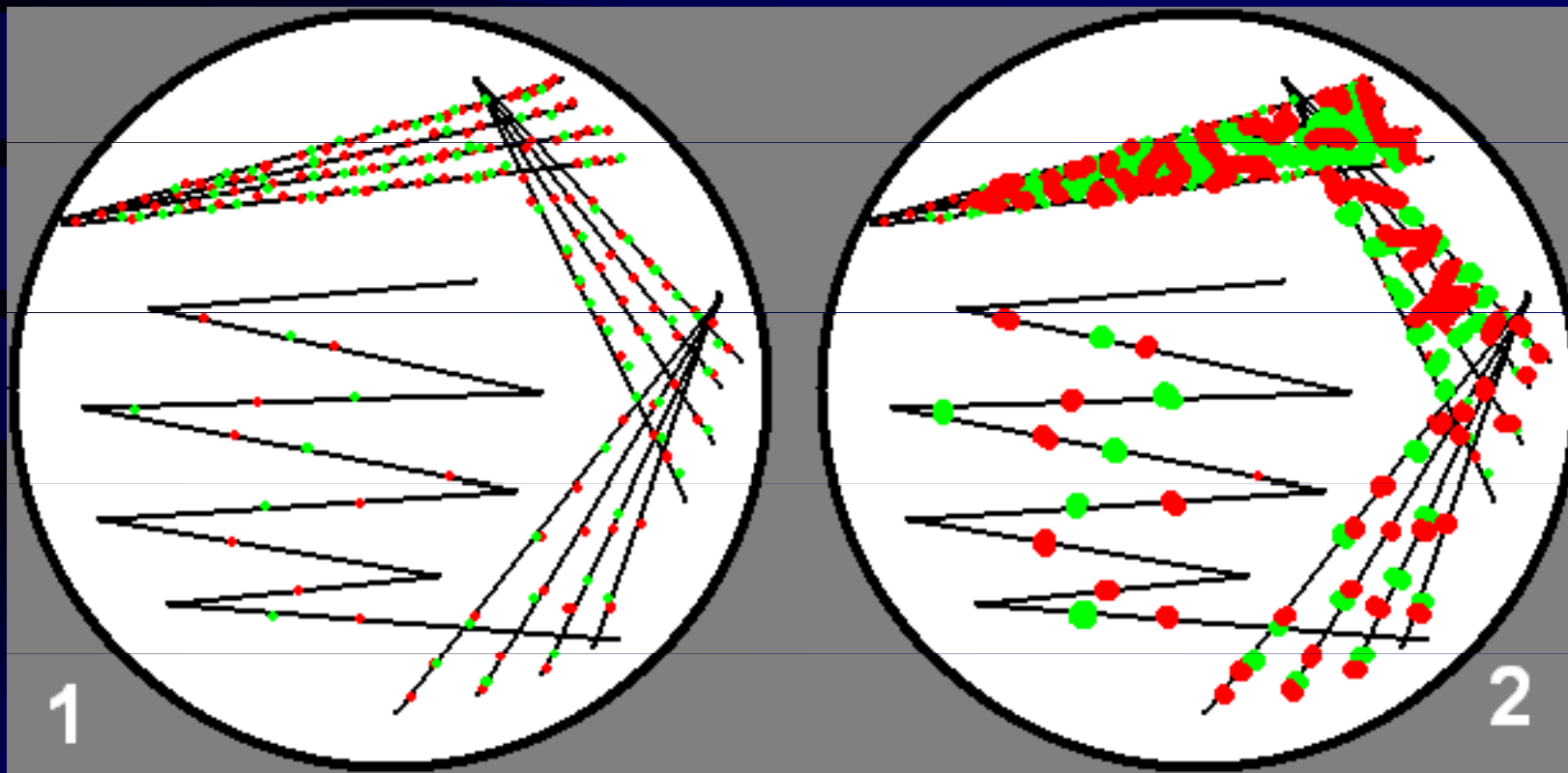


Co se dá popisovat u kolonií

- Velikost
- Barva
- Tvar (okrouhlý...)
- Profil (vypouklý...)
- Okraje (výběžky..)
- Povrch (hladký, drsný)
- Konzistence (suchá...)
- Průhlednost
- Vůně/zápach
- Okolí kolonie

To vše ale pouze v případě, že se podařilo rozočkováním získat jednotlivé kolonie. Tam, kde je hustý nárůst, se tyto vlastnosti hodnotit nedají.

V případě směsi vytvoří každá bakterie svoje kolonie (při dobrém rozočkování)



1 – očkování směsi bakterií (naznačeny tečkami), 2 – výsledek kultivace: v prvních úsecích směs, až na konci izolované kolonie



Pevné pudy

Existují různé typy pevných půd

- **Diagnostické půdy** – roste "kdeco, ale různě"
(krevní agar, VL krevní agar)
 - Chromogenní půdy – zvláštní druh diagn. půd
- **Selektivní půdy** – roste "jen málo co" (krevní agar s 10 % NaCl pro kultivaci stafylokoků)
- **Selektivně diagnostické půdy** – např. Endova (jen G–, a rozlišení bakterií podle štěpení laktózy)
- **Obohacené půdy** – k pěstování náročných bakterií (čokoládový agar, což je zahřátý krevní agar)
- **Speciální půdy** – mají své zvláštní určení (MH půda pro testy citlivosti kmene k antibiotikům)

Půdy diagnostické

- Nepotlačují růst žádného mikroba
- Zato díky svému složení **rozlišují mikroby podle určité vlastnosti**
- Příkladem je **krevní agar** ke sledování hemolytických vlastností a **VL krevní agar** (podobný, ale na anaeroby)
- Zvláštním případem půdy chromogenní a flurogenní



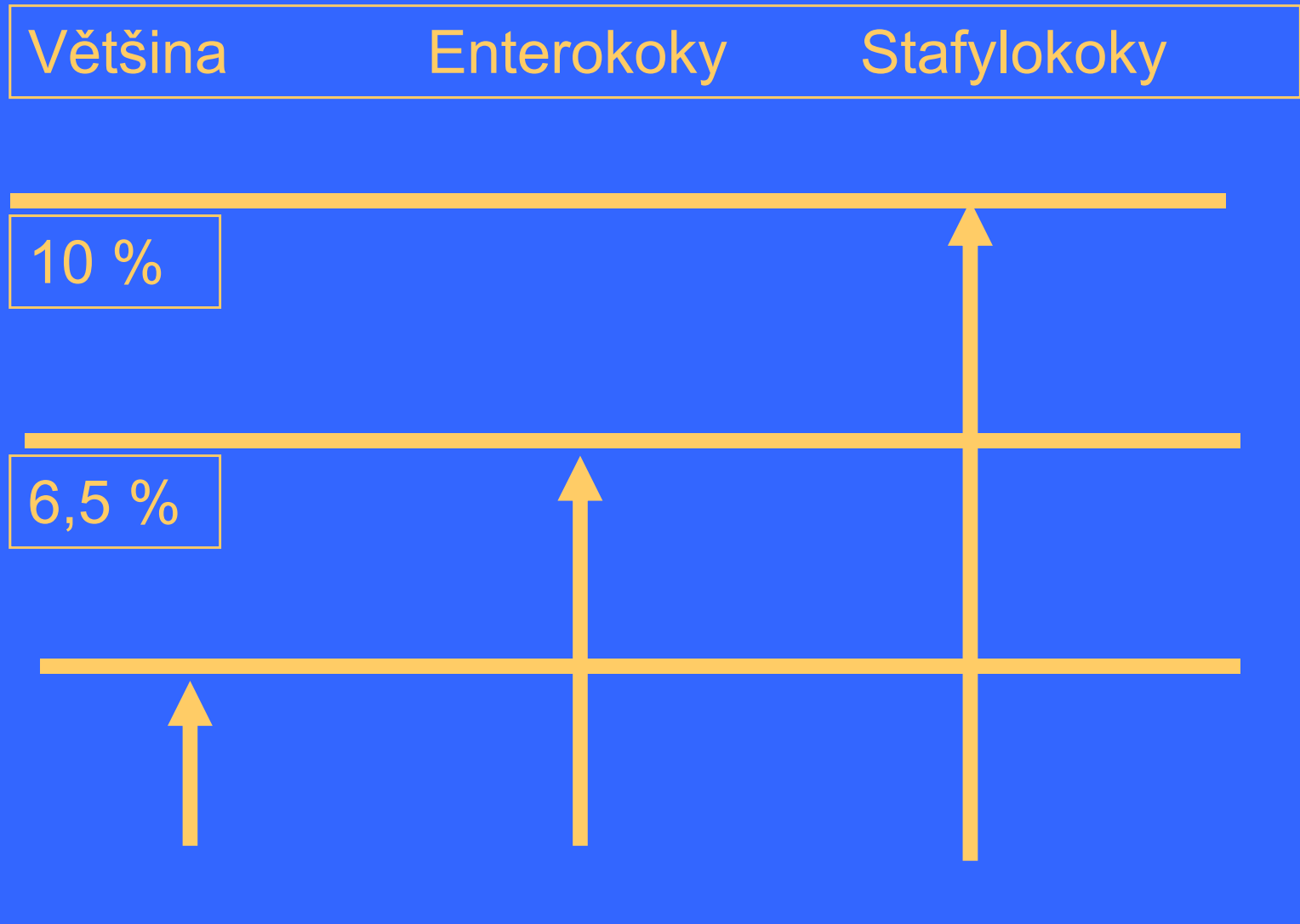
Pevné selektivní půdy

- Účelem je **vyselektovat (vydělít) ze směsi bakterií** pouze určitou skupinu nebo skupiny
- Příkladem je **agar pro stafylokoky s 10 % NaCl**
- Někdy je selektivnosti dosaženo přidáním antibiotika. **Krevní agar s amikacinem** je selektivní pro streptokoky a enterokoky



Ilustrační foto: krystalky NaCl

Selektivita hypersolného agaru



Příklad selektivně diagnostické půdy – Endova půda

Endova půda je selektivní jen pro některé
gramnegativní tyčinky (selektivní vlastnost)



Endova půda umí také
rozlišit bakterie
podle toho, jestli
dovedou štěpit
laktózu, nebo ne
(diagnostická
vlastnost).

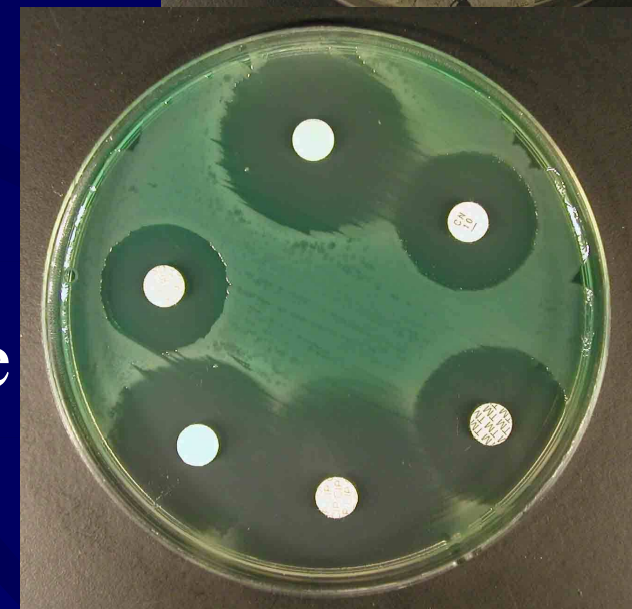
Chromogenní půdy

- Chromogenní půdy obsahují barvivo, na které je navázaný specifický substrát → barevnost se ztrácí, není to už barvivo, ale chromogen
- Bakterie schopná štěpit specifický substrát **změní chromogen zpět na původní barvivo**

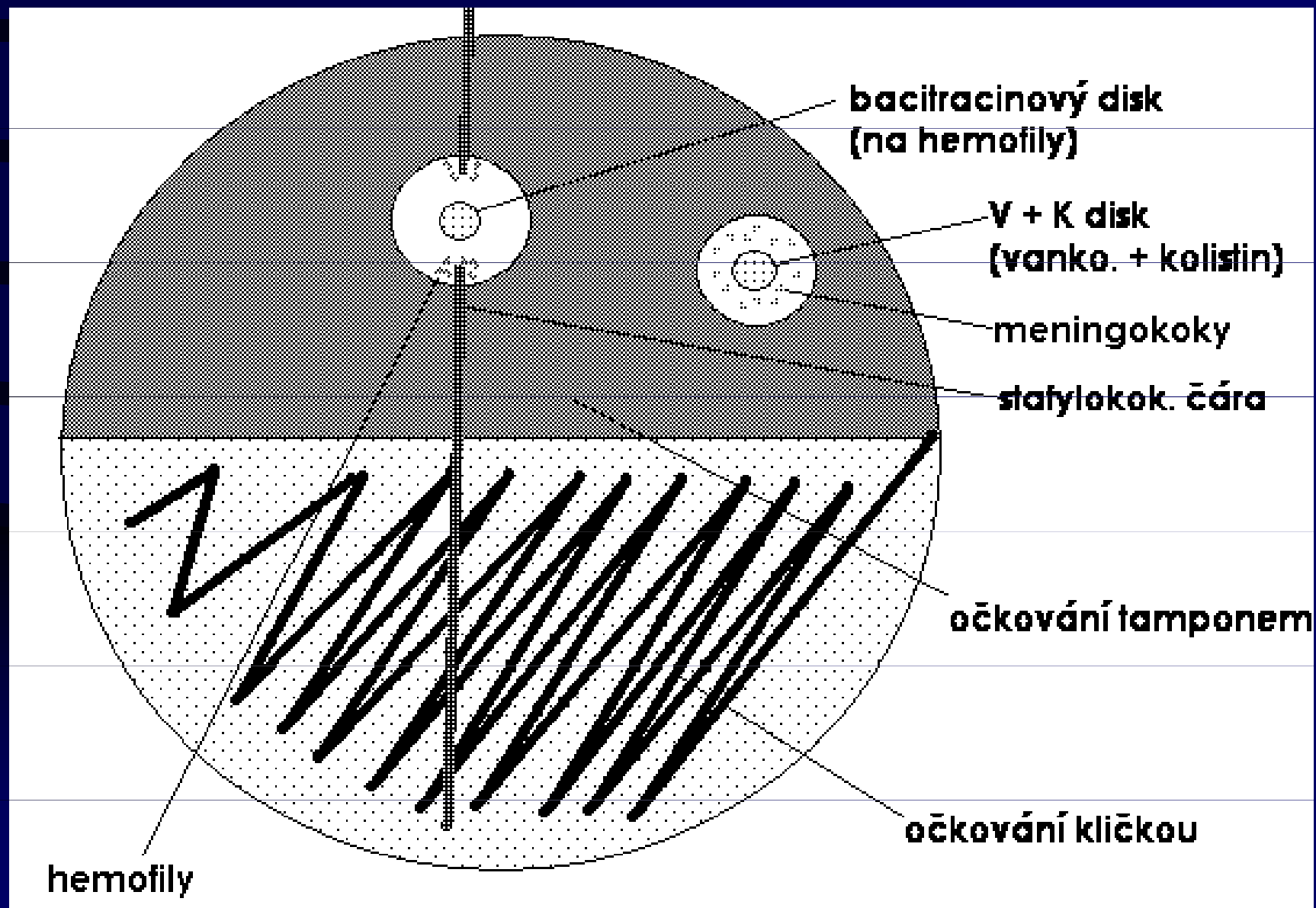


Půdy se používají i k testování citlivosti na antibiotika

- V tomto případě se bakterie **naočkují po celé ploše** a na půdu se nakladou kulaté **papírky napuštěné jednotlivými antibiotiky** (**antibiotické disky**). Antibiotika difundují agarem. Je-li kmen citlivý, vytvoří se zóna citlivosti.
- Nejčastněji se používá **bezbarvá MH půda**, na které je zároveň dobře vidět i pigmenty bakterií



Postup očkování výtěru z krku



Výtěr z krku – reálný výsledek



Pěstování anaerobních bakterií

Anaerobní bakterie nesnášejí kyslík. Musíme je tedy pěstovat ve speciální atmosféře bez kyslíku.



Biochemické identifikační metody

- *I mezi savci jsou rozdíly. Člověk neumí tvořit vitamin C, někteří savci ano*
- Bakterii předložíme určitý **substrát** a zkoumáme, zda ho bakterie pomocí svého enzymu změní v **produkt**. Produkt se musí lišit od substrátu **skupenstvím** či **barvou**. Neliší-li se, užijeme **indikátor**
- **Existuje přitom velké množství způsobů technického provedení tohoto typu testů.**

Možnosti praktického provedení

- **Rychlé testy (vteřiny až minuty)**
 - Katalázový test
 - Testy s diagnostickými proužky (oxidáza)
- **Testy s inkubací (hodiny až dny)**
 - Jednoduché zkumavkové testy
 - Složité zkumavkové testy
 - Sady jednoduchých zkumavkových testů
 - Testy v plastové destičce (miniaturizace)
 - Jiné testy (např. Švejcarova plotna)

Katalázový test

- **Katalázový test:** velmi jednoduchý, do substrátu (roztok H_2O_2) rozmícháme bakterie. Bublinky = pozitivita. **Princip:** $2 \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$

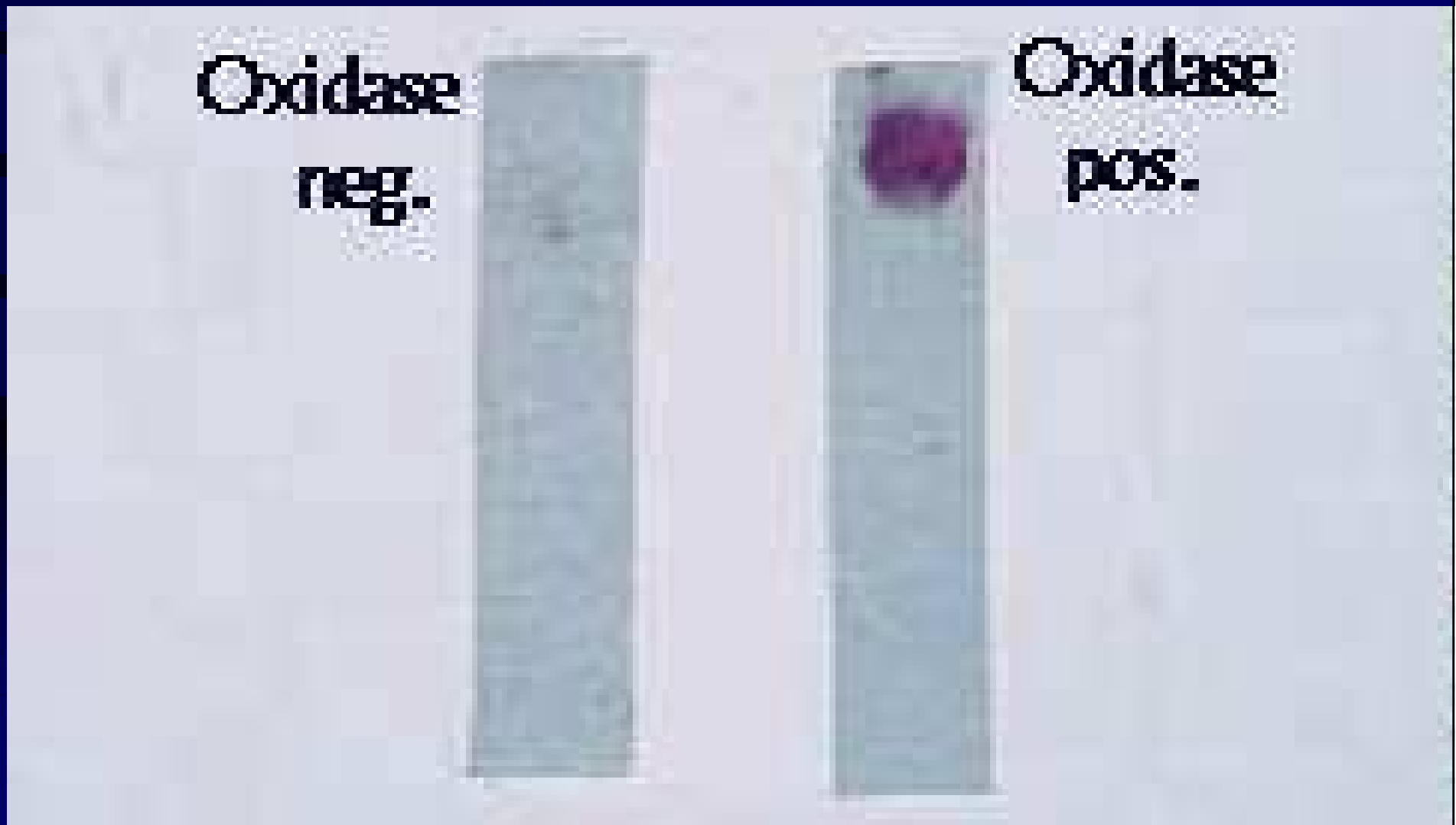
Catalase +



Catalase -



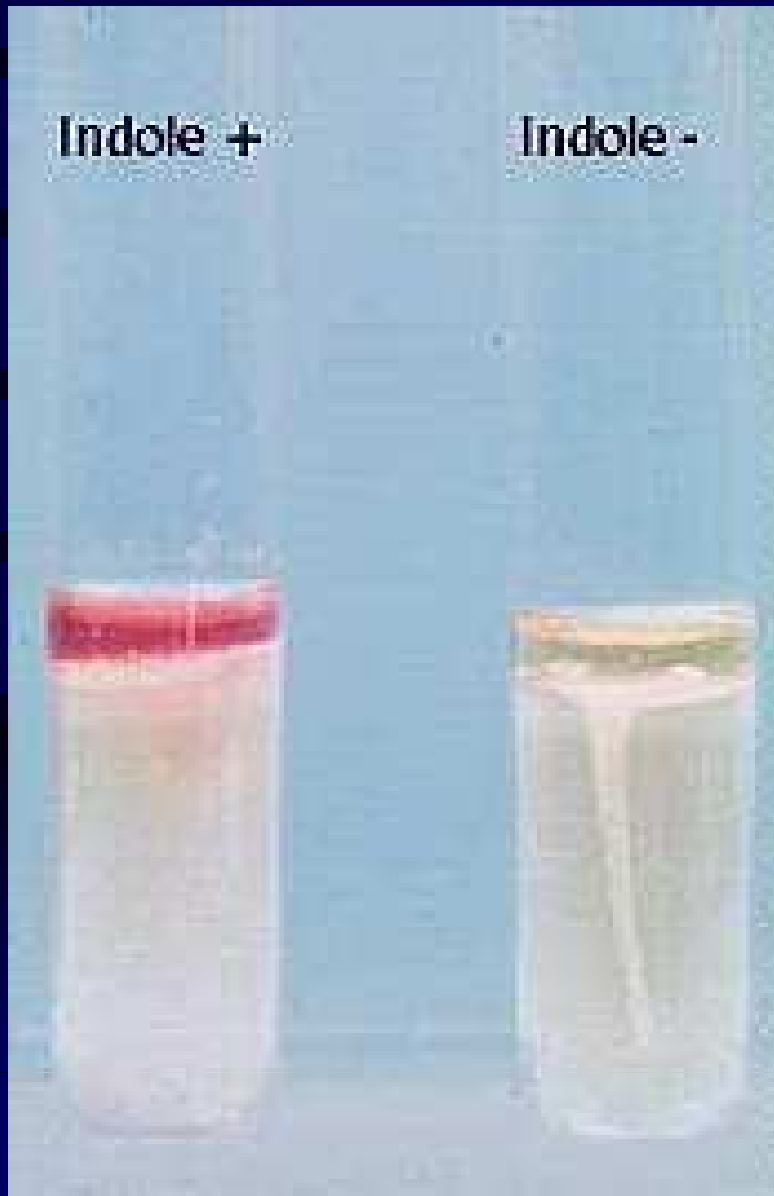
Příklady dalších testů: oxidázový test (diagnostický proužek)



Provedení testu v praxi



...a další testy



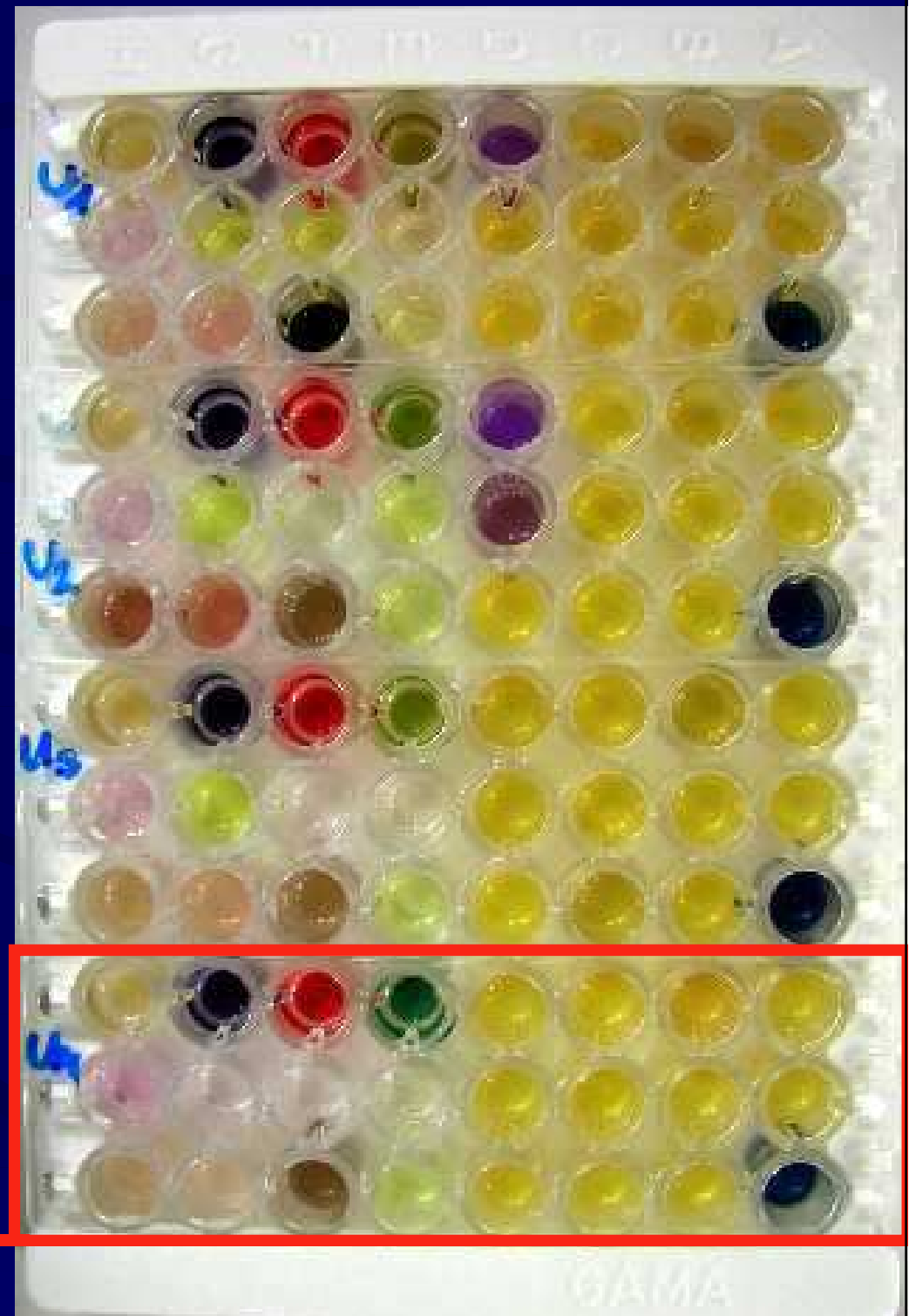
Někdy se zkoumají i vzájemné interakce
dvou různých bakteriálních kmenů



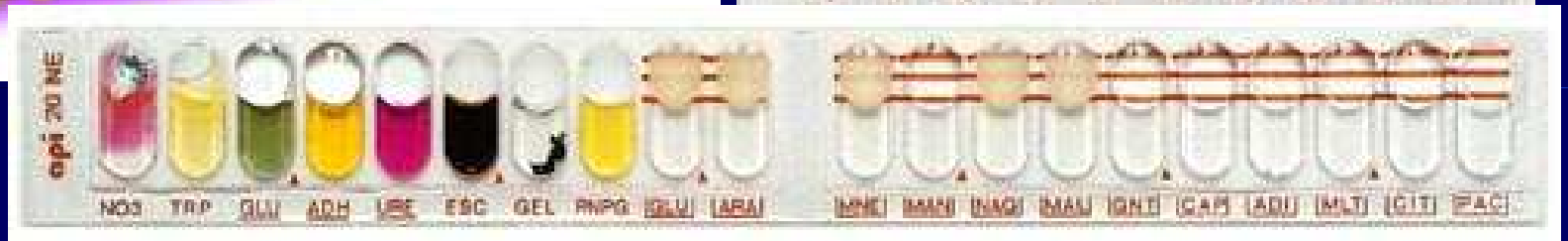
Moderní biochemické testy zahrnují i desítky reakcí

- Testy se dělají v důlcích plastových mikrotitračních destiček.
- Počet testů v sadách kolísá od sedmi až po více než padesát
- Liší se v technických detailech. Vždy je však substrát lyofilizovaný, bakterie se nejprve rozmíchá ve fyziologickém roztoku nebo suspenzním médiu a pak se kape či lije do důlků

NEFERMtest 24
Pliva Lachema:
do jednoho rámečku
lze vložit čtyři
trojřádky (čtyři testy,
určení čtyř různých
kmenů)



Zahraníční soustavy





Pokus na zvířeti

Pokus na zvířeti býval důležitou součástí diagnostiky v začátcích mikrobiologie. Jsou ale výjimečné případy, kdy se uplatní i dnes.



Průkaz nukleové kyseliny

- **metody bez amplifikace nukleové kyseliny** (klasické genové sondy)
- **metody s amplifikací** (namnožením)
 - PCR (polymerázová řetězová reakce)
 - LCR (ligázová řetězová reakce)
- Principiálně se **použití v mikrobiologii neliší od použití jinde** (např. v genetice)
- Nevýhoda – **někdy jsou až příliš citlivé**, takže se prokáže každá molekula DNA, která mohla třeba „přilétnout odněkud zvenčí“. Citlivost se dnes ale dá omezit.

Co je to antigen

Antigen je **struktura na povrchu mikroba** (ale i třeba pylového zrnka či zvířecího chlupu), které tělo provokuje k tvorbě protilátek

Antigen **se dá prokázat pomocí protilátky**, která se proti němu vytvořila například u zvířete

Co je to protilátka

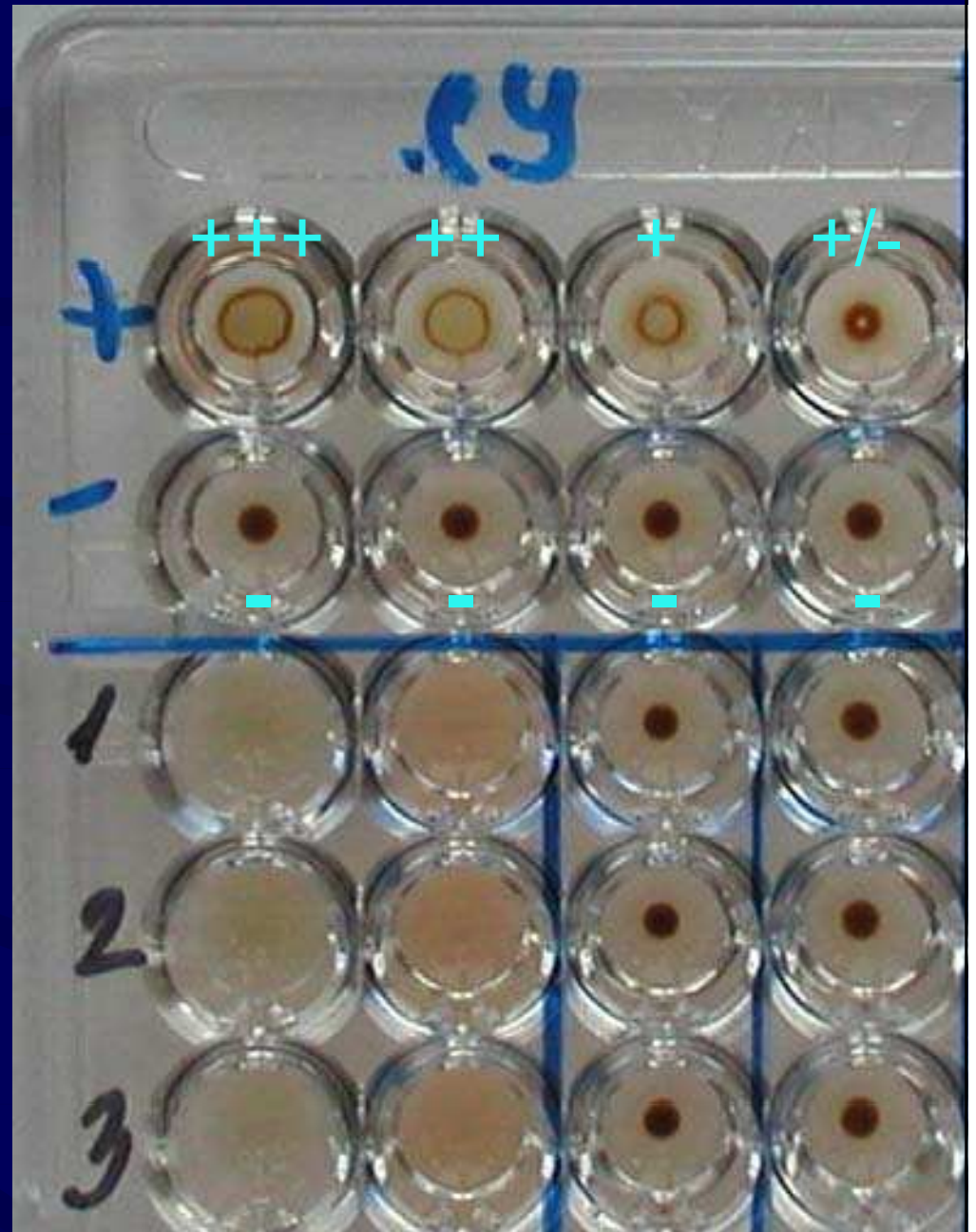
Protilátka je **bílkovina, imunoglobulin, produkt imunitního systému člověka** (nebo zvířete).

Protilátka **se dá prokázat pomocí specifického antigenu**, proti kterému se vytvořila

Serologické metody (založené na interakci antigen – protilátka)

- **pracují s reakcí antigen – protilátka** (za vzniku komplexu); vzájemně se liší způsobem detekce komplexu antigen – protilátka
- **při stejném principu metod se dají využít pro průkaz antigenu** (pomocí zvířecí protilátky) **i pro průkaz protilátky v těle pacienta** (pomocí antigenu mikroba, nebo i celého mikroorganismu)

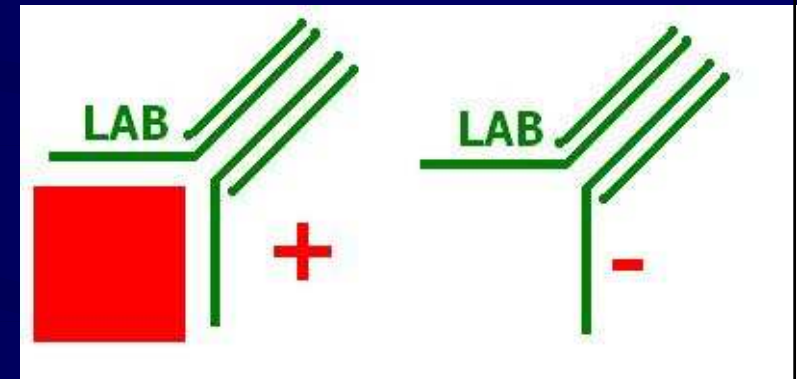
Serologická reakce v praxi



Protilátku antigenem, nebo antigen protilátkou?

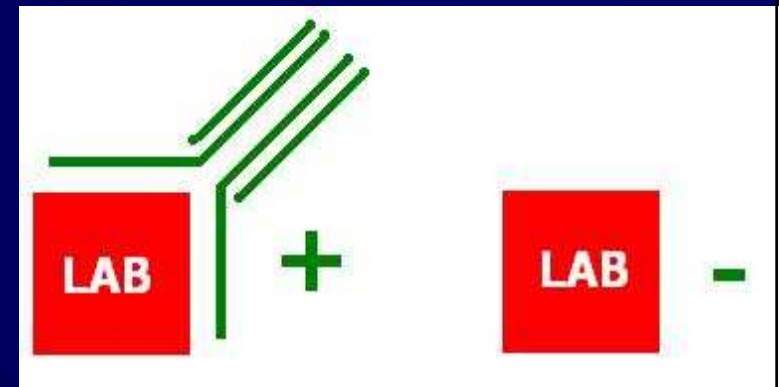
Průkaz antigenu: laboratorní protilátky (zvířecího původu) + vzorek pacienta nebo kmen mikroba.

Přímá metoda



Průkaz protilátky: laboratorní antigen (mikrobiální) + sérum (výjimečně sliny, likvor) pacienta

Nepřímá metoda



Průkaz antigenu a antigenní analýza

- **V rámci průkazu antigenu** (tedy přímého průkazu) lze ještě dále rozlišit dva podtypy:
 - **Přímý průkaz antigenu ve vzorku**, například ve vzorku mozkomíšního moku
 - **Antigenní analýza (identifikace) kmene**, izolovaného ze vzorku (například kmene meningokoka)
- U **nepřímého průkazu** naopak vždy pracujeme se vzorkem, a to **se vzorkem séra**, kde hledáme protilátky

Serologická laboratoř



Čerstvá, nebo dávno prodělaná nákaza?

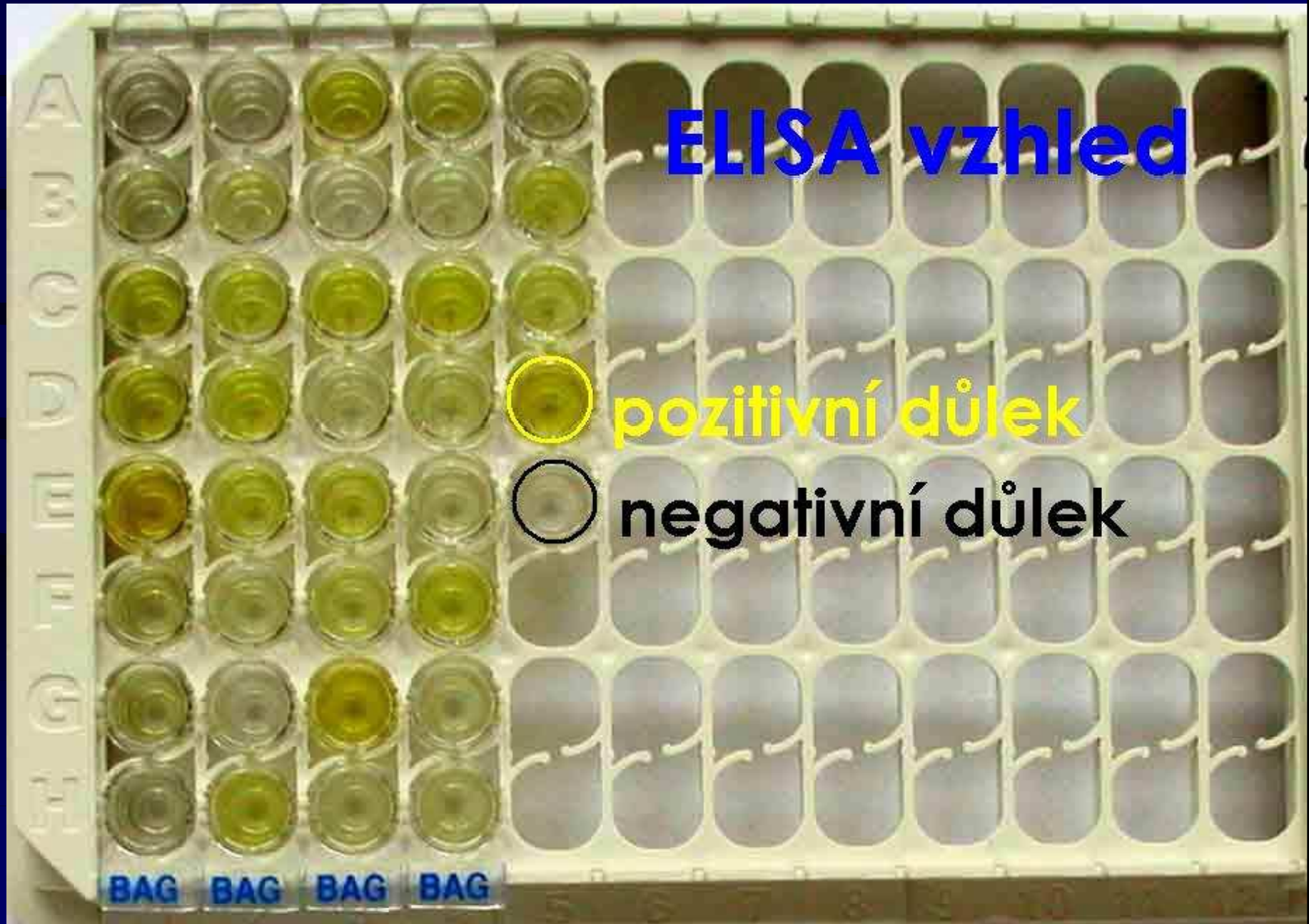
- Po nákaze přetrvávají protilátky dlouhodobě, někdy celoživotně. Samotný nálezn protilátek tedy tolik neznamena. Pro rozlišení čerstvé × dávno prodělané nákazy se používá:
 - **zjištění množství protilátek** (jako tzv. titru) a **změna tohoto množství v čase** (dynamika titru)
 - **rozlišení protilátek třídy IgM a IgG** (jen u některých novějších reakcí je to ovšem možné)
 - **stanovení tzv. avidity** (síly vazby protilátek)

Průběh protilátkové odpovědi

- **Akutní infekce:** velké množství protilátek, převážně třídy IgM ¹
- **Pacient po prodělané infekci:** malá množství protilátek, hlavně IgG (imunologická paměť) ²
- **Chronická infekce:** různé možnosti



Ukázka serologické reakce ELISA



Práce laboratoře v praxi

- Do laboratoře **přijde vzorek**
- **K nepřímému průkazu** jsou přijímány **vzorky séra** (kde hledáme protilátky)
- **K přímému průkazu** jsou přijímány **vzorky z těch míst na těle, kde předpokládáme infekci:** nejčastější jsou výtěry z krku a nosu, vzorky moče a stolice, ale někdy přijde i třeba kousek srdeční chlopně odebraný při operaci

Proces mikrobiologického vyšetřování – na všem záleží!!!

LÉKAŘ (KLINIK)

LABORATOŘ

Indikace vyšetření – zda, jaké

Vlastní provedení odběru

Transport materiálu

Rozhodnutí, jak zpracovat

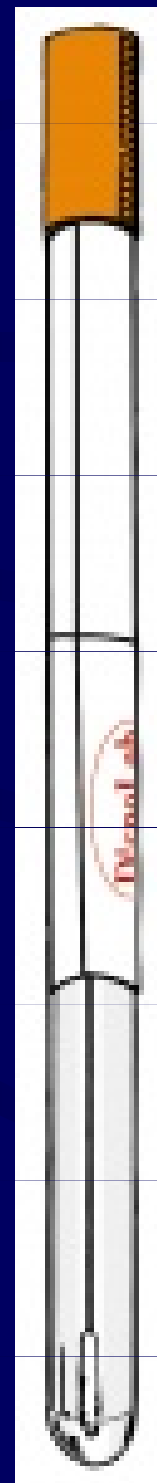
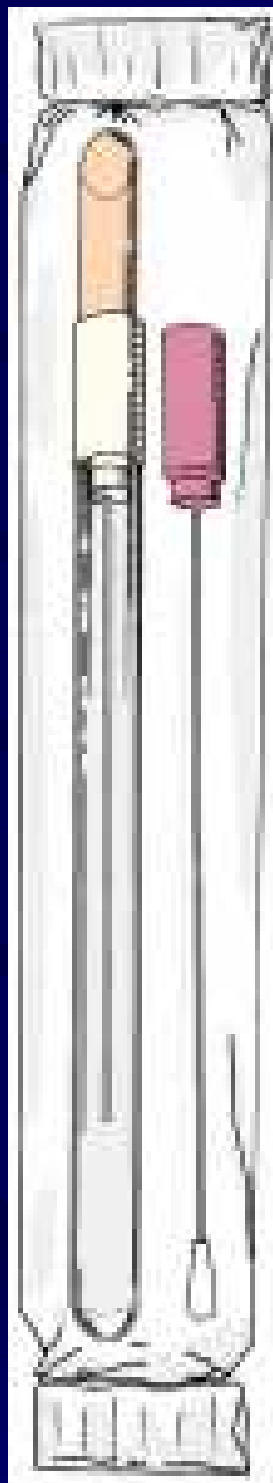
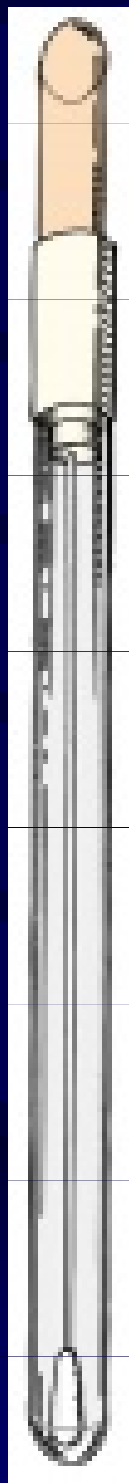
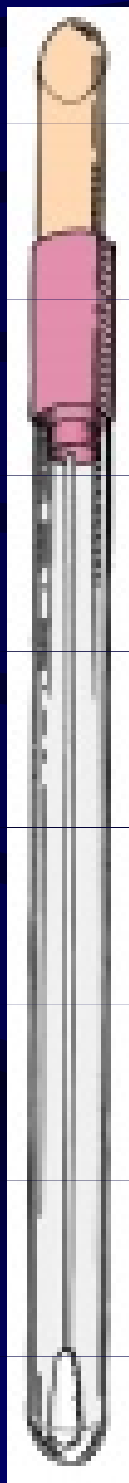
Vlastní zpracování materiálu

Zaslání výsledku

Interpretace v kontextu ostat. výsledků a stavu pacienta (léčit vždy pacienta, ne nález)

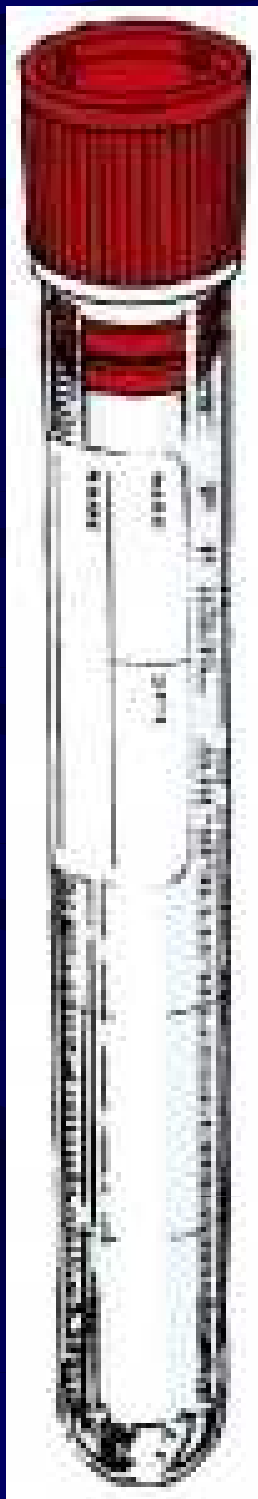
Některé odběrové soustavy

- zleva:
 - CAT
 - FungiQuick
 - souprava na chlamydie
 - suchý tampon s drátem



Příklady nádobek

- Vlevo
klasická
zkumavka,
např. na
sérum,
vpravo
kontejnerek
na střevní
parazity



Takhle to vypadá, když přijdou
vzorky (a blíží se Vánoce ☺)

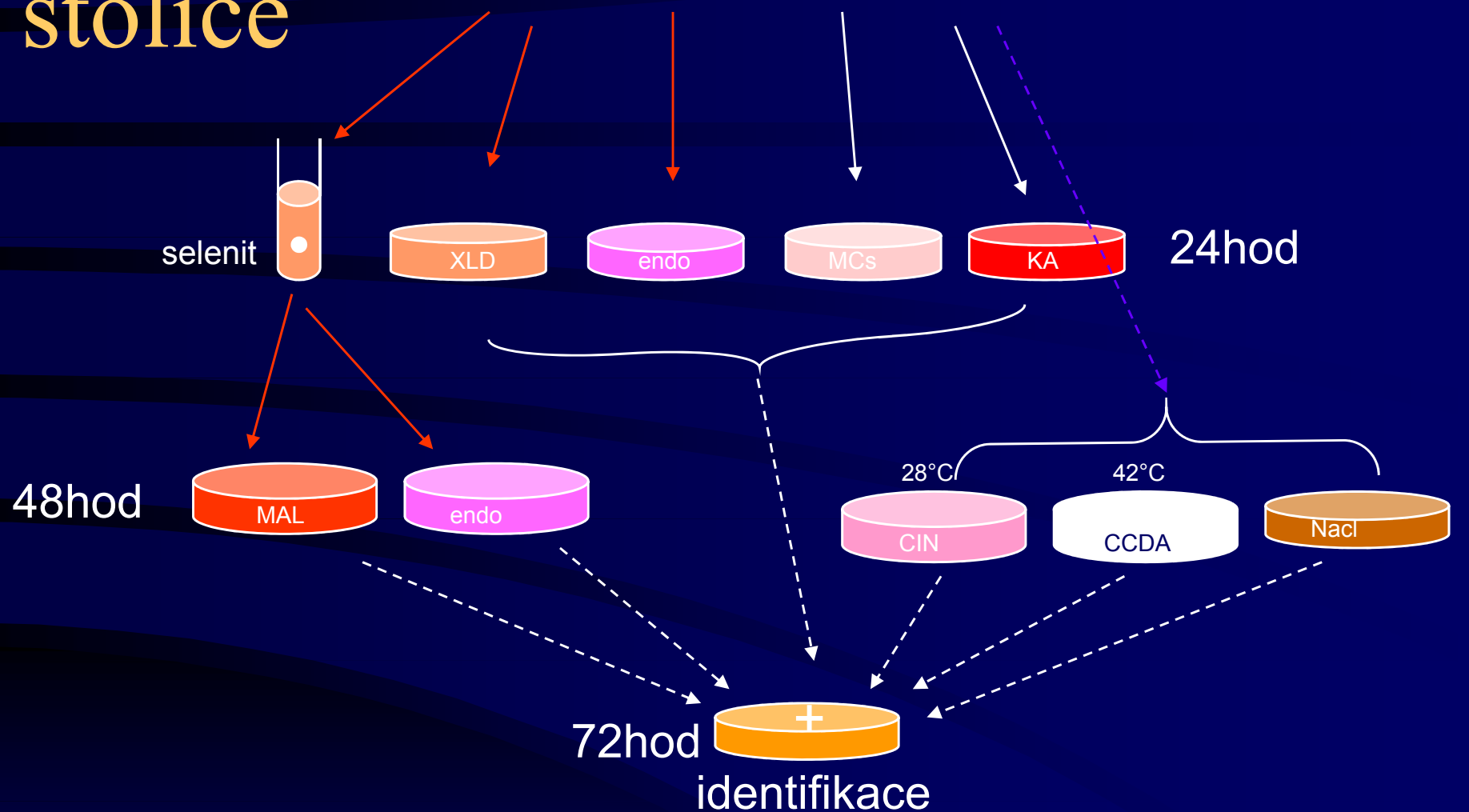


Časový faktor (tam, kde se provádí přímý kultivační průkaz bakterií

- **V „den 0“** obvykle pouze přijde vzorek. Provést lze leda mikroskopii, přímý průkaz antigenu ve vzorku či průkaz DNA
- **V „den 1“ či „den 2“** je k dispozici výsledek primokultivace. Když je podezřelý nebo pozitivní, pokračuje diagnostika do dalšího dne
- **Negativní výsledky** se odesílají v „den 1“ nebo „den 2“, **pozitivní** v „den dva až „den 5“ podle situace

Příklad: stolice

Den 0. (přijatá stolice)



Negativní výsledek je za 48h

Pozitivní za 72h a více

*Není-li uvedeno jinak kultivace probíhá při 37°C

Laboratoř klinické bakteriologie

Laborant 2 „dělá opáčka“: u pozitivních vzorků připravuje testy citlivosti a testy bližšího určení mikroba


Mikrobiolog (VŠ) „odečítá laboratoř“ – prohlíží výsledky kultivací

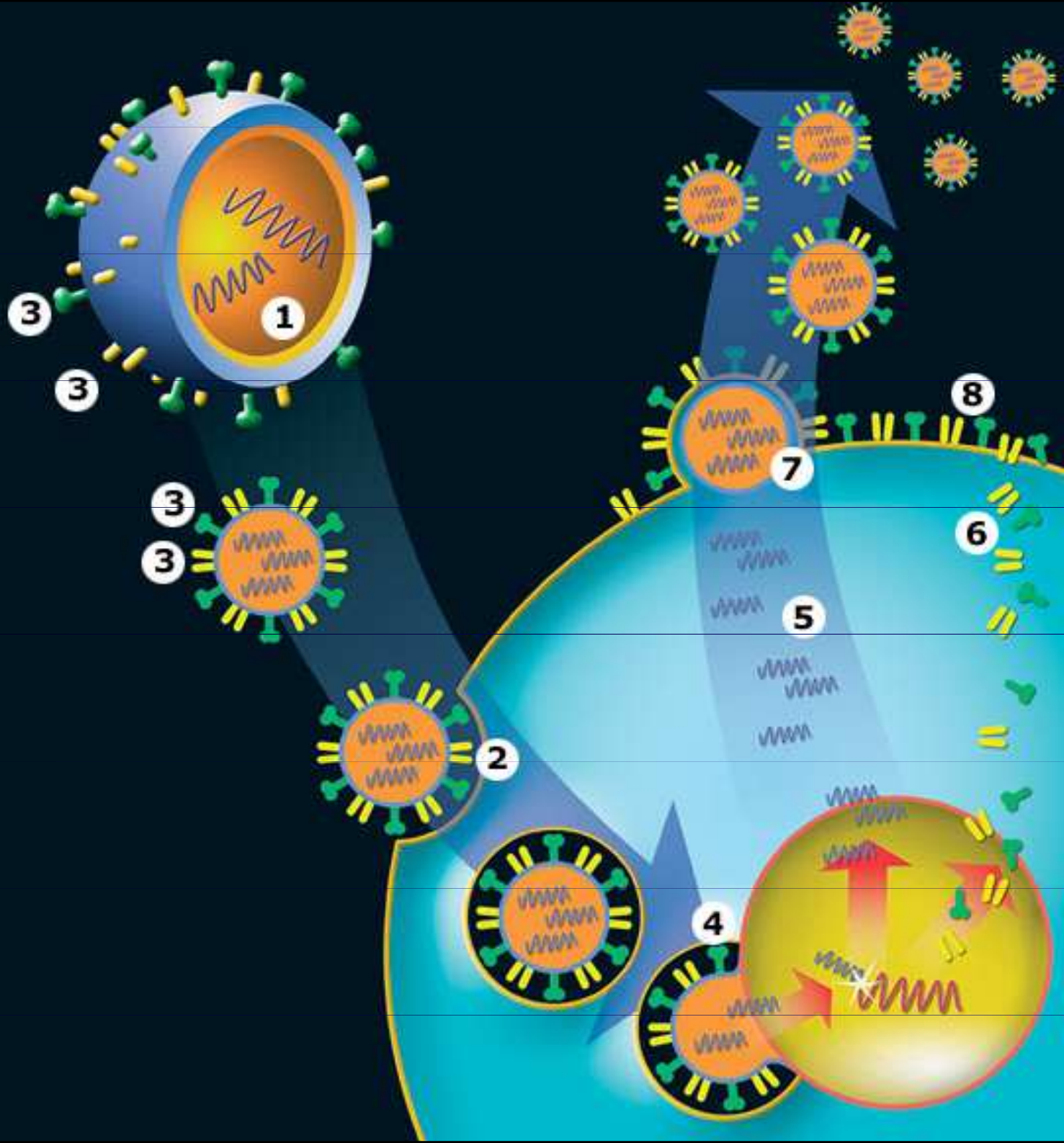
Laborant 1 zapisuje výsledky



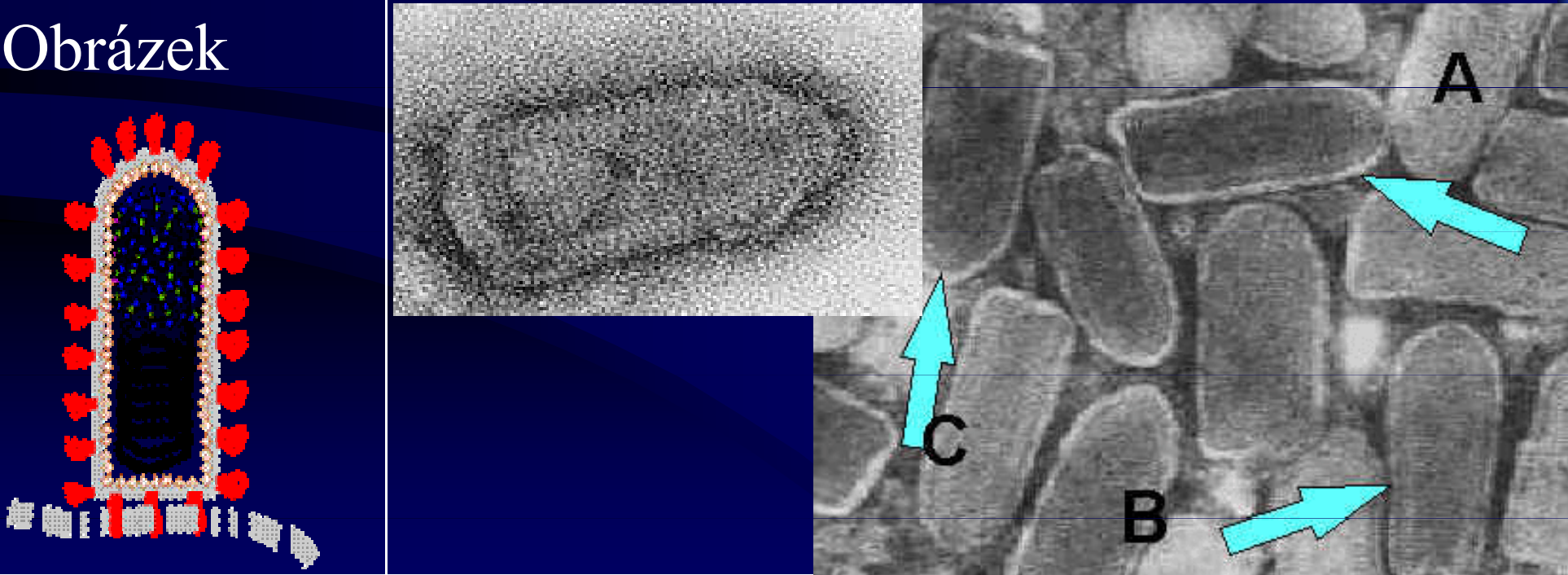
III. Malý atlas
některých
důležitých
mikrobů

1. Virus chřipky

Zařazení	Obalené ss-RNA viry, šroubovicová sym.
Patogenita	Celkové horečnaté onemocnění
Přenos	Hlavně kapénková infekce
Léčba	Léčí se příznaky, u oslabených antivirotika
Obrázky	



2. Virus vztekliny

Zařazení	Obalené ss-RNA viry, šroubovicová sym.
Patogenita	Postihuje nervový systém. Usmrcuje
Přenos	Pokousáním psem, liškou či jiným zvíř.
Léčba	Očkování. Rozvinutá vzteklna neléčitelná.
Obrázek	 The image block contains three visual elements. On the left is a 3D model of the rabies virus, showing a blue cylindrical core with a red outer shell and a red beaded corona. On the right are two electron micrographs. The top-left micrograph shows a single, roughly spherical virus particle. The larger micrograph on the right shows multiple virus particles, with three cyan arrows pointing to specific features labeled A, B, and C. Label A points to the outer envelope, B points to the inner core, and C points to the surface spikes.

3. Virus spalniček

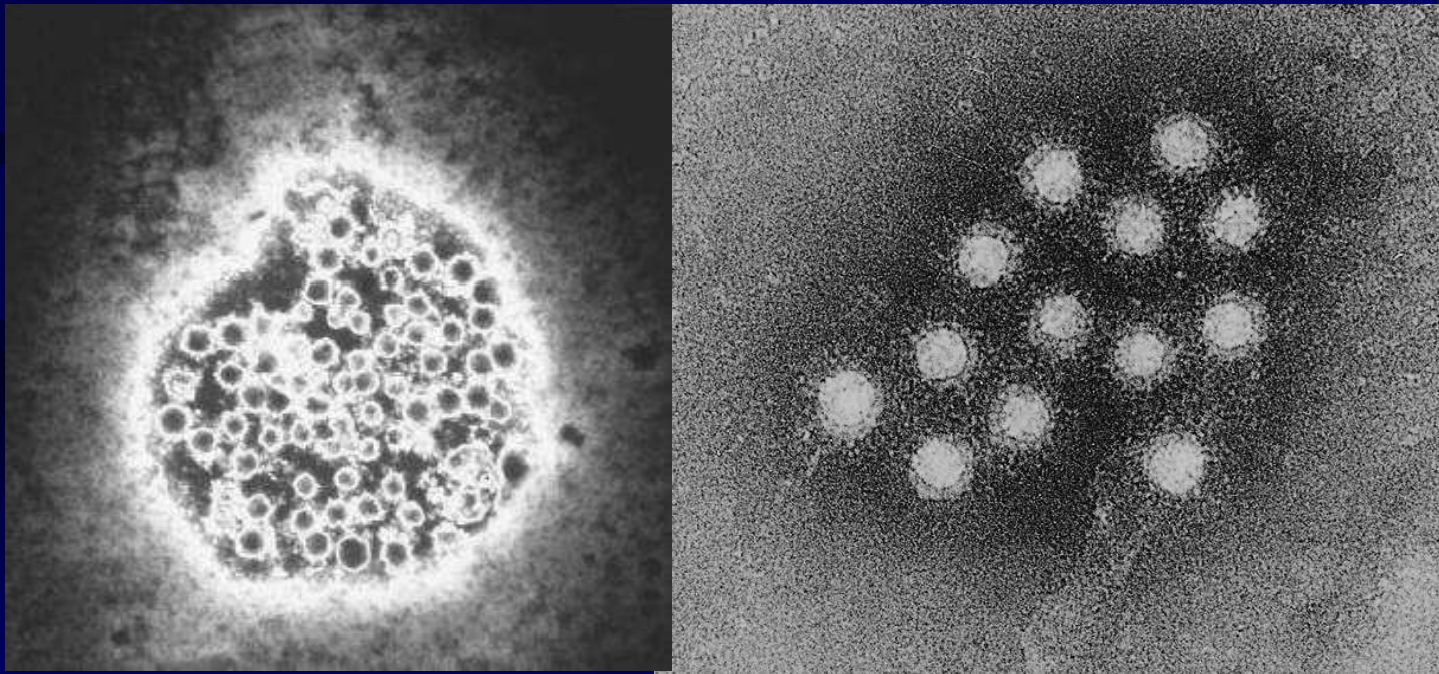
Zařazení	Obalené ss-RNA viry, šroubovicová sym.
Patogenita	Dětské onemocnění, dnes vzácné
Přenos	Kapénková infekce
Léčba	Léčí se příznaky. Prevence očkováním
Obrázek	 <p>The image contains two parts: on the left, a schematic diagram of a measles virus particle showing its helical structure, surface glycoprotein spikes, and internal components like the nucleocapsid and matrix; on the right, a transmission electron micrograph (TEM) showing the characteristic helical surface pattern of the virus.</p>

*Podobný
je i virus
příušnic.*

4. Respirační syncyeciální virus

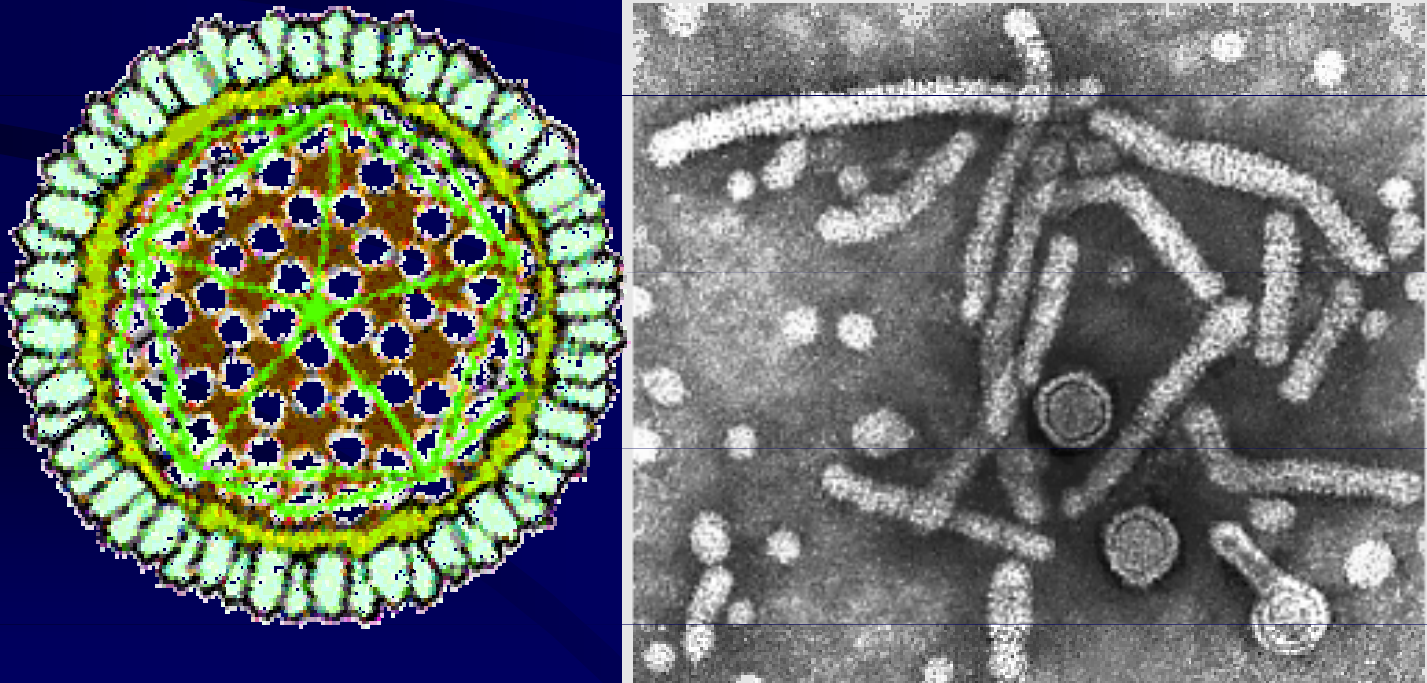
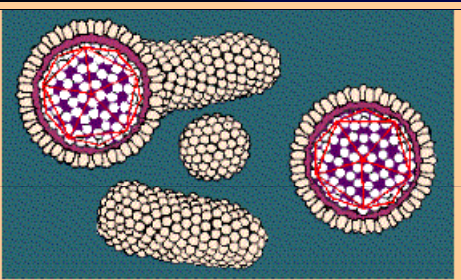
Zařazení	Obalené ss-RNA viry, šroubovicová sym.
Patogenita	Jeden z běžných původců dých. infekcí
Přenos	Kapénková infekce
Léčba	Pouze léčba příznaků
	 

5. Virus žloutenky A

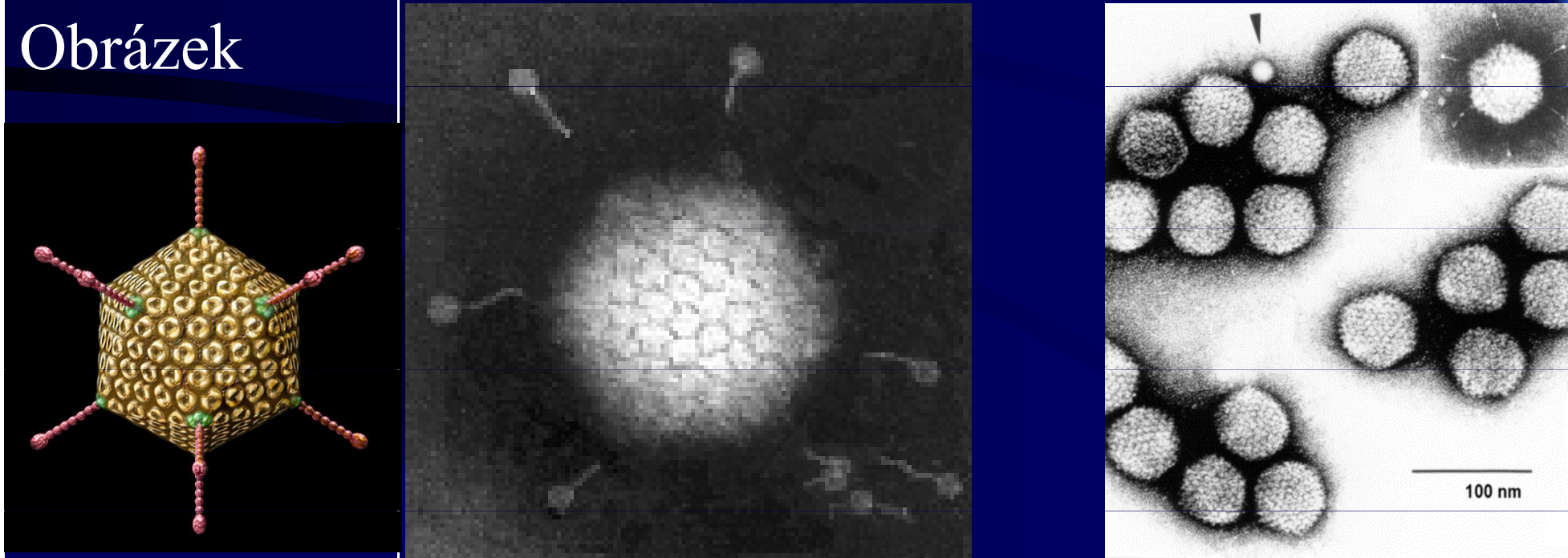
Zařazení	Neobalené ss-RNA viry, kubická sym.
Patogenita	Celková nemoc, zánět jater
Přenos	Nemoc špinavých rukou
Léčba	Interferon, léky chránící játra
Obrázek	

Podobně se přenáší i virus žloutenky E, ale není příbuzný

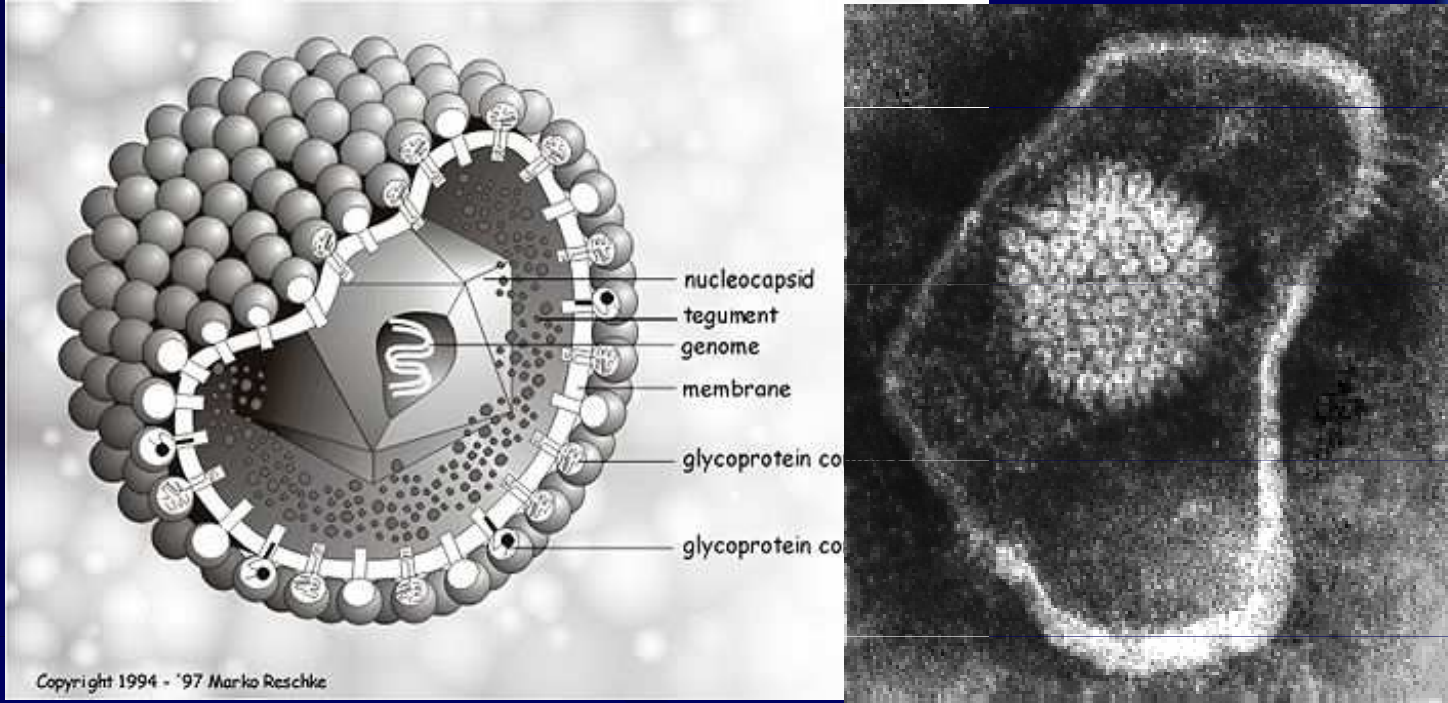
6. Virus žloutenky B

Zařazení	Obalené ds-DNA viry, kubická symetrie
Patogenita	Jako virus žl. A, ale mívá trvalé následky
Přenos	Krví (injekční jehlou) a pohlavním stykem
Léčba	Interferon, léky chránící játra
Obrázek	
	
	Podobně se přenáší i virus žloutenky C, ale není příbuzný

7. Adenovirus

Zařazení	Neobalený ds-DNA virus, kubická sym.
Patogenita	Dýchací, trávicí potíže, záněty spojivek
Přenos	Kapénková infekce
Léčba	Pouze léčba příznaků
Obrázek	

8. Virus prostého oparu

Zařazení	Obalený ds-DNA virus, kubická sym.
Patogenita	První typ dělá opar rtu, druhý pohlaví
Přenos	Líbání, dotýkání, pohlavní styk
Léčba	Antivirotika jako masti i celkově
Obrázek	 <p>Příbuzný je i virus pásového oparu a planých neštovic, virus infekční mononukleózy a cytomegalovirus</p>

9. *Staphylococcus aureus* „Shlukovec zlatý“


Zařazení	Grampozitivní kok
Patogenita	Hnisavé nemoci kůže, dýchacích cest aj.
Přenos	Kontaktem, případně vzduchem
Léčba	Antibiotika (nejlépe oxacilin)
Obrázky	 

Shlukovec zlatý – příběh



- **Paní J. K.**, kuchařka ve studentské menze. Má na ruce **puchýř, naplněný žlutobílým hnisem**. Nevěnuje mu však pozornost. Bere do ruky knedlíky, které se už nevaří, ale jen prohřívají
- **Student Miloš** s přítelkyní si pochutnají na knedlíkách. Odpoledne mají schůzku ... ale co to? Půl hodinu před schůzkou Miloše najednou zničehož nic **rozbolelo břicho**. Na WC neví, který konec trávicí trubice nastavit vstříc míse dřív... Volá přítelkyni – ta má ale pochopení, je na tom stejně... Romantické odpoledne se nekoná...

10. *Streptococcus pyogenes* „Řetězovec hnisavý“

Zařazení	Grampozitivní kok	
Patogenita	Angína, spála, růže, záněty ve tkáních...	
Přenos	Kapénková infekce, kontakt	
Léčba	Antibiotika, nejlépe klasický penicilin	
Obrázky	 <small>©Dr. med. T. Pietzcker, Ulm</small> <small>medianovo.d</small>	

Řetězovec hnísavý – příběh



- Pan Hmoždinka je kutil. Pracoval v dílně, když se uvolnila těžká fošna se svěrákem a spadla mu na nohu. Vznikla **velká tržná rána**, navíc znečištěná. Pana Hmoždinku odvezli do nemocnice. **Ránu chirurgicky ošetřili**, ale objevily se vysoké horečky a příznaky **sepsy**. Při reoperaci byl zjištěn **zánět svalových obalů (fascií) s nekrózou**. Bohužel, veškerá péče nepomohla: **noha nakonec musela být amputována**.



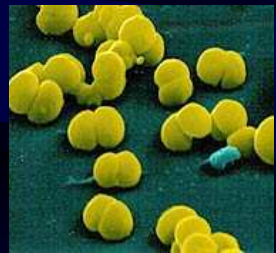
These large, dark, boil-like blisters are a diagnostic symptom of necrotizing fasciitis (also known as flesh-eating disease).

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

11. *Neisseria meningitidis*

„Neisserka mozkomíšní“ (meningokok)

Zařazení	Gramnegativní kok
Patogenita	Smrtící záněty mozkových plen
Přenos	Kontakt, na krátkou vzdálenost vzduchem
Léčba	Rychlá obnova rovnováhy + antibiotika
Obrázky	 



Meningokoka má v krku asi 10 % úplně zdravých osob!

Neisserka mozkomíšní – příběh

- Lucie se už čtyři týdny učila na maturitu z fyziologie. **Vůbec nevycházela z domu** a jen seděla na zadnici. U maturity nakonec ze sebe něco vykoktala, a tak odmaturovala úspěšně.
- Večer to všichni **šli oslavit na maturitní večírek v tanečním klubu**. Bylo tam nakouřeno a tancovalo se do hluboké noci. Druhý den **Lucce nebylo dobře**, začala mít **teploty** a pak se objevila i vyrážka.

(pokračování)

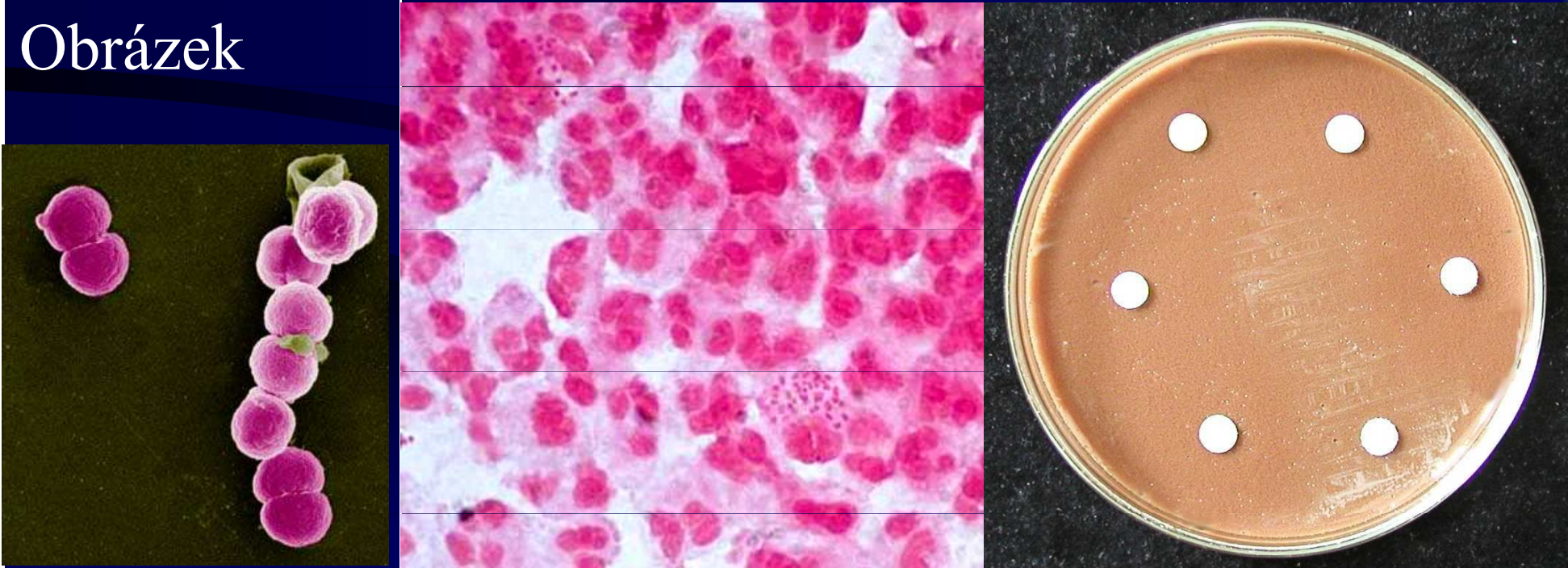


- Až tehdy se nechala odvézt do nemocnice na **infekční oddělení**. V sanitce upadla do bezvědomí a lékaři konstatovali **rozvrat metabolismu**. Po mnoha hodinách intenzivní snahy lékařů se však její stav zlepšil. Byla zachráněna a po dvou týdnech se vrátila domů.

Lucku se podařilo zachránit, ale mnoho podobných případů bohužel končí smrtí...


12. *Neisseria gonorrhoeae*

„Neisserka kapavčitá“ (gonookok)

Zařazení	Gramnegativní kok
Patogenita	Hnisavý zánět močové trubice a děl. čípku
Přenos	Pouze pohlavním stykem
Léčba	Antibiotika
Obrázek	


13. *Listeria monocytogenes*

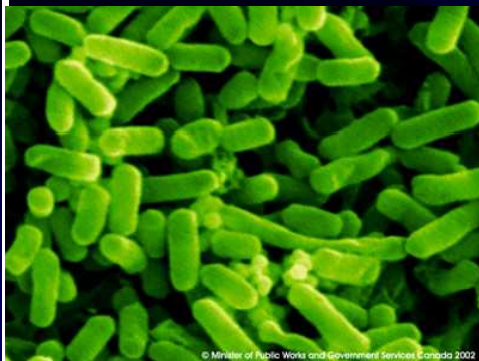
„Listerka sýrová“

Zařazení	Grampozitivní tyčinka
Patogenita	Postihuje různé orgány, hlavně oslabených
Přenos	Z potravin, hlavně sýrů, salátů a podobně
Léčba	Antibiotika – ale jen některá
Obrázek	

14. *Escherichia coli*

„Escheriška tračnicková“

Zařazení	Gramnegativní tyčinka, enterobakterie
Patogenita	Běžná flóra střeva, patogen močový a jiný
Přenos	Potravinami, kontaktem
Léčba	Antibiotika (třeba ko-trimoxazol)
Obrázek	



15. *Salmonella enterica*

„Salmonka střevní“

Zařazení	Gramnegativní tyčinka, enterobakterie
Patogenita	Průjmová onemocnění
Přenos	Potravinami (vejíčka, zákusky)
Léčba	Zavodnění, dieta, nedávat antibiotika!
Obrázek	

Salmonela – příběh

- Slečna Tereza je mlsná. Dnes si po obědě dala krémový zákusek. Odpoledne ji začalo bolet břicho, a pochopila, že vzdálit se na delší dobu z domu nelze. Navštívila lékaře, ten jí odebral výtěr z řitního kanálu. Za několik dní volali Tereze z územního pracoviště krajské hygienické stanice. Tereza si byla jistá, že za všechno může krémový zákusek. Ukázalo se však, že její podezření bylo falešné...


Z čeho to tedy měla?



- **Viník** – jídlo **nemůže být krémový zákusek!**
Neodpovídá totiž inkubační doba, které je u salmonelóz zpravidla dva dny, někdy ale i týden
- **Viníkem – jídlem** se nakonec ukázal být žlutkový věneček, který Tereza zbaštila o dva dny dřív
- **Lidským viníkem** bude pravděpodobně někdo v cukrárně „U hysterické cukrářky“, kde někdo něco nejspíš zanedbal. Právě teď po tom pátrá oddělení hygieny výživy KHS. Může jít o primární či sekundární kontaminaci jídla.

16. *Pseudomonas aeruginosa*

„Vytrvalka měděnková“

Zařazení	Gramnegativní tyčinka, „nefermentující“
Patogenita	Infekce popálenin a ran oslabených osob
Přenos	Hlavně v nemocnicích, kontaktem aj.
Léčba	Velmi obtížná, pouze silnými antibiotiky
Obrázky	

Můj vlastní zážitek s vytrvalkou

Pseudomonády napadají i jinak zdravé lidi při porušení anatomické kožní bariéry. Infekce však bývá jen lokální.

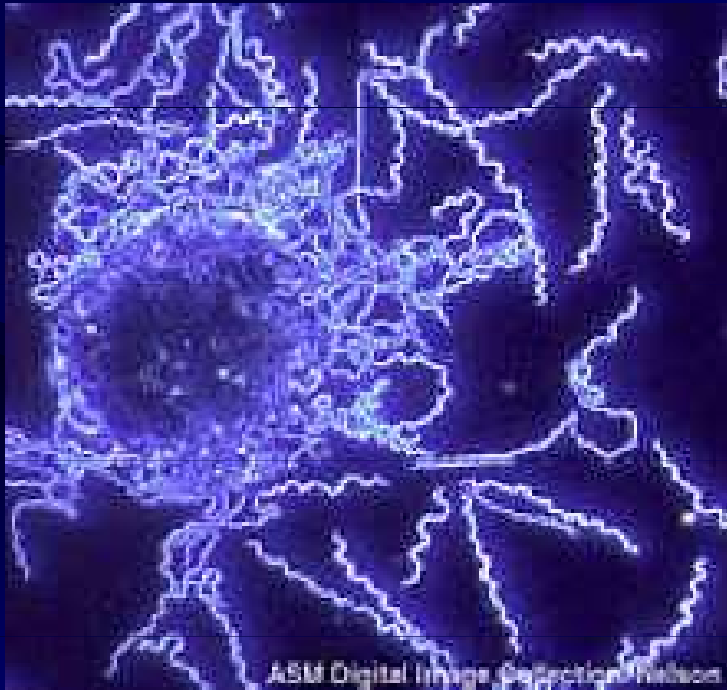

- 13. 1. 2006, pátek, Padang, Západní Sumatra, Indonésie: as. Zahradníček **padá do nezakryté dešťové kanalizace** s následkem poměrně velké rány sahající na okostici holenní kosti
- **O několik týdnů později:** rána je intenzivně cítit vytrvalkou, která je následně z rány i vykultivována. Naštěstí je dobře citlivá
- Terapie: lokální – ušní kapky otosporin (**gentamicin + polymyxin B**, obě složky účinné)
- Terapie úspěšná

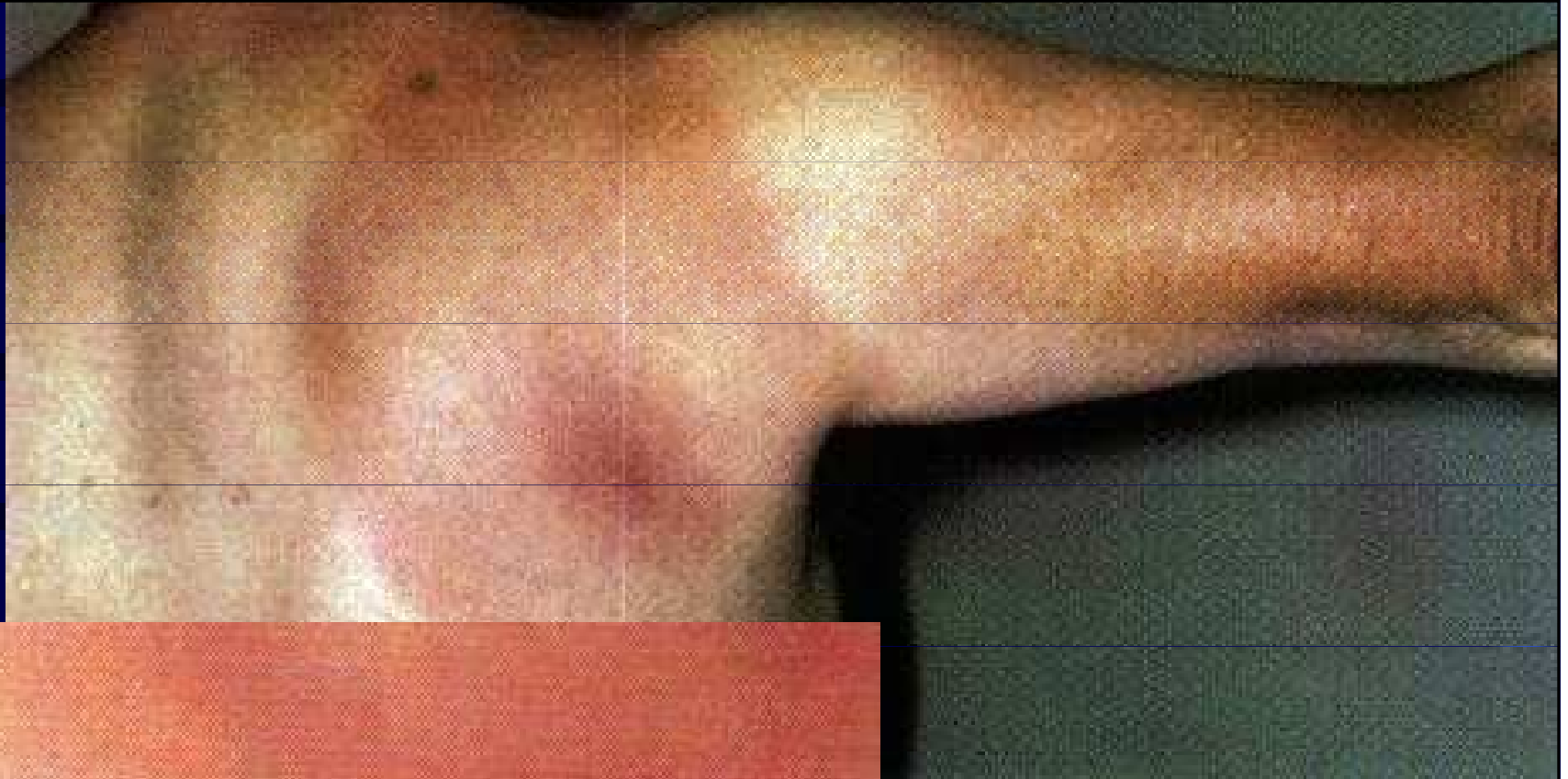
Padang



17. *Borrelia burgdorferi*

„Borrelovka burgdorferova“

Zařazení	Spirocheta
Patogenita	Kostní či nervová forma lymeské nemoci
Přenos	Přisátí klíštěte
Léčba	Antibiotika
Obrázky (vpravo přenašeč)	 



18. *Mycobacterium tuberculosis*

„Zvláštnostěnka tuberkulózní“

Zařazení	Gramem se nebarvící tyčinka
Patogenita	Plicní i mimoplicní formy tuberkulózy
Přenos	Vzduchem, napadá oslabené osoby
Léčba	Pouze kombinací silných speciálních léků
Obrázek	


Příběh TBC

- Honza již několik let věděl, že je HIV pozitivní. Věděl, že je zranitelnější než jiní
- Přesto ho zaskočilo, že v poslední době začal kašlat. Po mnoha vyšetřeních se potvrdila miliární (zrnkovitá) forma tuberkulózy.



19. *Clostridium perfringens*

„Uzavřenka pronikající“

Zařazení	Grampozitivní tyčinka, sporulující, anerob
Patogenita	Plynaté sněti za války či při katastrofě
Přenos	Vnikne do znečištěné rány
Léčba	Přísun kyslíku, antisérum, antibiotika
Obrázek	   <p>Copyright © 2001 Dennis Kunkel Microscopy, Inc. / Dennis Kunkel</p>

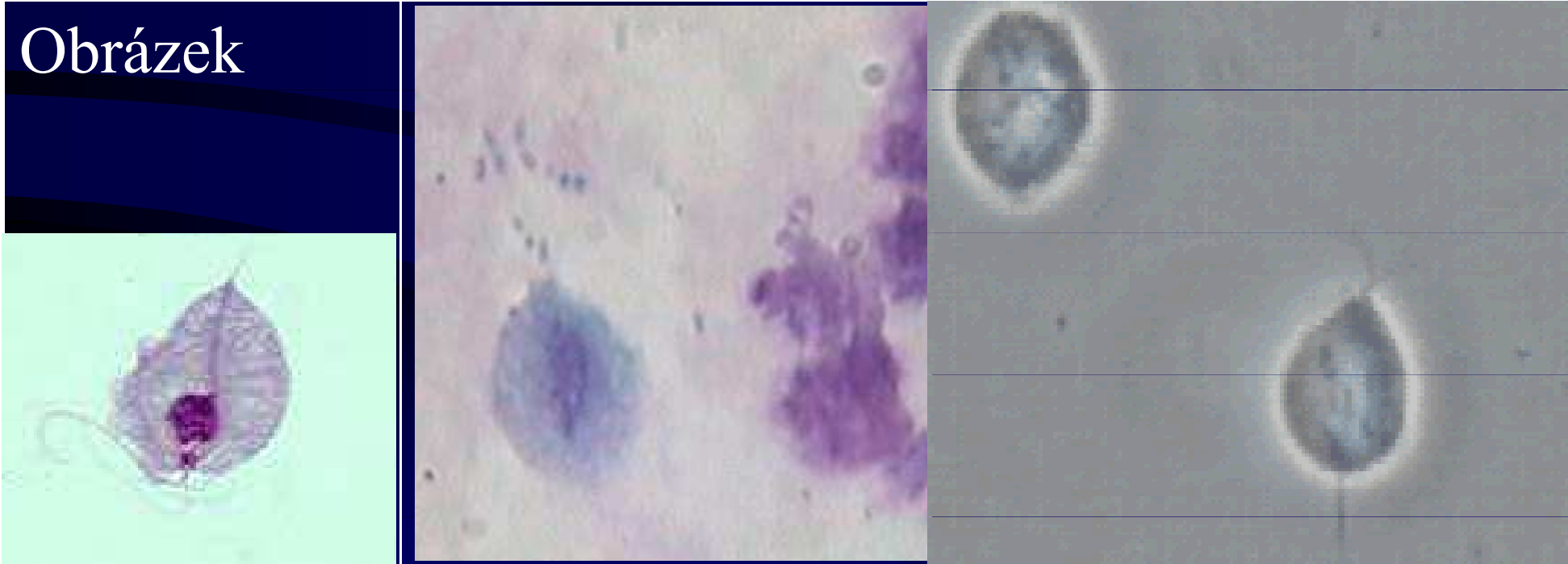
20. *Candida albicans*

„Bělenka bělostná“

Zařazení	Houba, kvasinka
Patogenita	Infekce různých sliznic, popř. i tkání
Přenos	Hlavně potravinový
Léčba	Místní i celková antimykotika
Obrázek	 The image block contains three distinct visual elements. On the left is a black and white micrograph showing a long, thin filament of yeast cells, with a circular cell at the end highlighted by a small circle. In the center is a color micrograph showing a dense cluster of numerous small, round, purple-stained yeast cells. On the right is a photograph of a petri dish containing a green agar medium with a white, filamentous, and somewhat crystalline growth pattern.

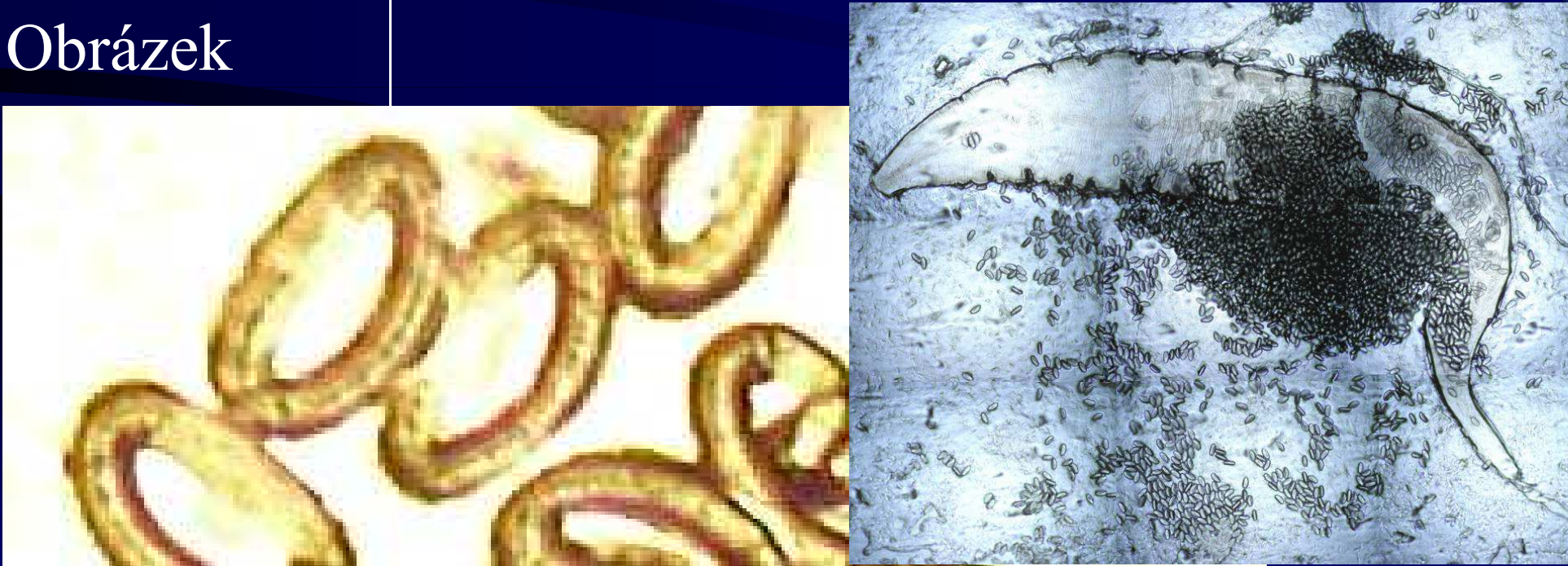
21. *Trichimonas vaginalis*

Bičenka poševní

Zařazení	Prvok, bičíkovec
Patogenita	Poševní výtoky
Přenos	Pohlavní styk, výjimečně např. prádlem
Léčba	Metronidazol (antiparazitární léčba)
Obrázek	

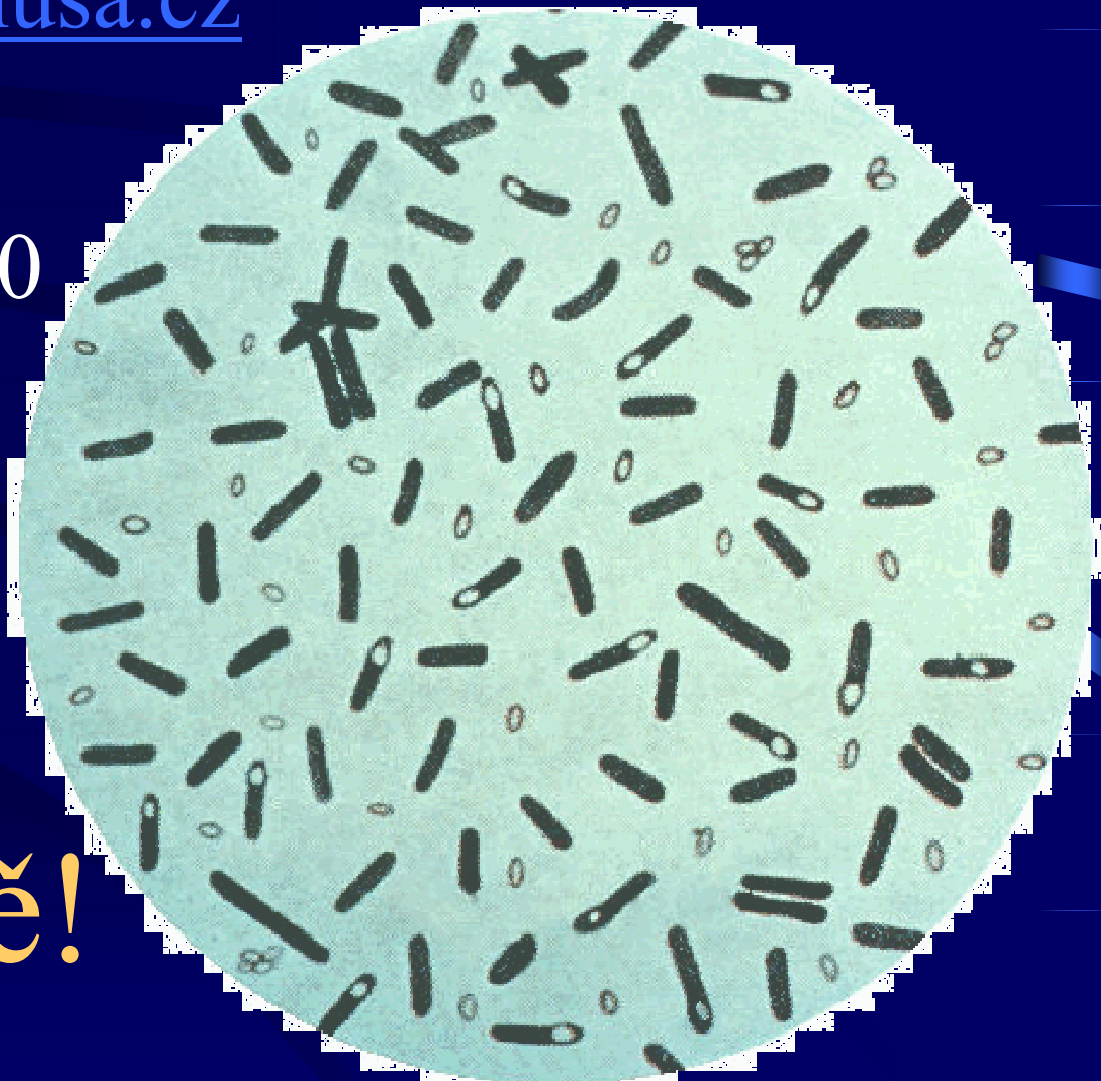
22. *Enterobius vermicularis*

Roup dětský

Zařazení	Hlístice
Patogenita	Hlavně svědění v okolí řitního otvoru
Přenos	Potravní, často autoinfekce u dětí
Léčba	Anthelmintika
Obrázek	

Prostor pro dotazy

- Pokud vás něco napadne později, můžete mne kontaktovat
- e-mail: zahradnicek@fnusa.cz
- mobil: 777 031 969
- ICQ: Bacil, 242-234-100



Mějte se krásně!