

Obsah této prezentace

Organizační pokyny

Základní definice pojmů

Morfologie a struktura mikrobů

Fyziologie mikrobů

Mikroby a makroorganismus

Symbolem „domečku“ na konci každé části se vrátíte na tento obsah.

Abych se představil

- MUDr. Ondřej Zahradníček, Mikrobiologický ústav Lékařské fakulty Masarykovy univerzity a Fakultní nemocnice u sv. Anny
- povolání: **klinický mikrobiolog**, asistent na LF MU; učíme u nás bakalářské obory, mediky, budoucí zubaře i studenty PŘF
- **zájemci se u mne mohou přihlásit a mohou se přijít podívat přímo k nám**

Učební materiály

- **Upravené odpřednášené prezentace** budou vyvěšeny ve Studijních materiálech na IS MU.
- Tamtéž budou viset **skripta** jako hlavní studijní materiál ke kolokviu. **Pozor, i po vyvěšení se pravděpodobně ještě budou aktualizovat!!!**
- Členění skript přibližně odpovídá jednotlivým přednáškám.

Zkouška

- **Probíhá písemně.** Píše se test, ke každé otázce budou pravděpodobně čtyři možnosti odpovědi. Počet otázek kolem padesáti, minimum nutné k získání kolokvia bude upřesněno
- Ústní formou se zkoušejí jen případné „třetí“ termíny (pravděpodobně nebude potřeba)

Náš
ústav



Výuka

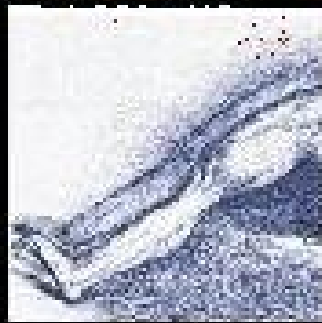
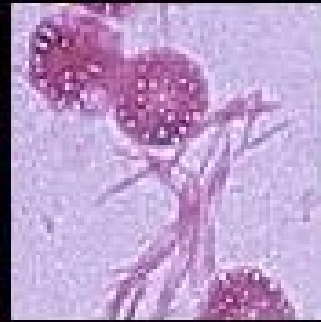
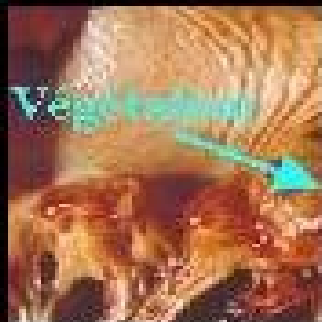
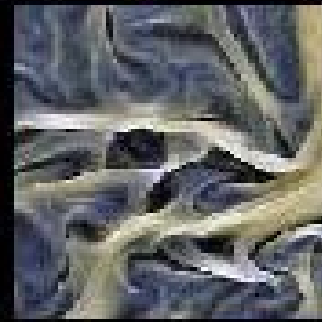
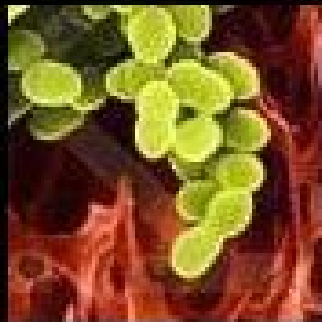
Výzkum

Provoz
(analýza
klinických
vzorků)

Foto: Archiv
MU

V naší praktikárně





Na úvod: Co je to vlastně mikrob?

Existují různé definice mikrobů (mikroorganismů). Přesto nejlepší je asi ta nejjednodušší:

- **Musí to být živé.** Například zrníčko prachu není mikrob, ač je mikroskopické
- **Musí to být mikroskopické.** Například žirafa není mikrob, i když je živá

Mikrobiologie občas studuje i organismy, které nejsou mikroby, ale mají mikroskopická některá stadia (tasemnice má mikroskopická vajíčka). Občas i takové, které nejsou mikroskopické vůbec (vši, blechy apod.)

Třídění živých organismů (obecně) – opakování středoškolské biologie

- **Priony** – neobsahují DNA, většinou se vůbec nepovažují za živé organismy
- **Viry a bakteriofágy**
- **Buněčné organismy**
 - **Archea** (archeobakterie)
 - **Eubacteria** (eubakterie) včetně sinic
 - **Eucarya** (eukaryotní organismy)
 - *dále se dělí např. na jednobuněčné a mnohobuněčné, v podstatě sem patří všichni živočichové, rostliny, houby, řasy, ale i takzvaní „prvoci“ (dodnes používaný název pro jednobuněčná eukaryota jiná než houby, bez buněčné stěny)*

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 typické klinicky významné mikroby:** člověk, každý druh zvířete či rostliny. Dokonce i mikroby (třeba bakterie) mají své mikroby (bakteriofágy).

Humánní klinická mikrobiologie

- je tedy mikrobiologický obor, který řeší mikroby se **vztahem k lidskému tělu**
- vychází z **obecné mikrobiologie, buněčné biologie a genetiky**
- vedle ní existuje také **veterinární klinická mikrobiologie, mikrobiologie rostlin, průmyslová mikrobiologie** a další využití mikrobiologie
- na klinickou mikrobiologii navazují různé **medicínské disciplíny** (nejvíc ovšem infekční lékařství a epidemiologie infekčních nemocí)

Mikrobiologie oka

- Mikrobiologie oka je **část humánní klinické mikrobiologie**. Je tedy důležitá zejména pro odborníky z příslušné oblasti, jakými byste měli být i vy.
- Kdo se chce zabývat mikrobiologií oka, musí mít nejprve **znalosti z obecné humánní klinické mikrobiologie**. Proto ani my nemůžeme začít hned očními mikroby, ale musíme to vzít více „zeširoka“.

Hlavní klinicky významné mikroby

- **Viry** (a priony) – nemají vlastní buňku
- **Bakterie** (třeba streptokok nebo *Escherichia*) – prokaryotní organismy
- **Houby** (kvasinky a plísně) – eukaryotní organismy s buněčnou stěnou
- **„Paraziti“** (viz dále) – eukaryotní organismy bez buněčné stěny

Ne všechno, čím se zabývá tzv. lékařská parazitologie, jsou mikroby. Jak už bylo řečeno, někteří paraziti jsou „velcí“.

V oblasti oka se mohou vyskytnout bakterie i viry, o něco méně často či paraziti.

S tím také souvisejí hlavní části lékařské mikrobiologie:

- **Lékařská virologie** se zabývá viry (případně i priony)
- **Lékařská bakteriologie** se zabývá bakteriemi
- **Lékařská mykologie** se zabývá houbami
- **Lékařská parazitologie** se zabývá parazity

*Někdy se ještě zvlášť klade **lékařská serologie**. Je to část mikrobiologie, používající takzvané serologické metody. Bude vysvětleno dále.*

Pozor: Parazit¹ × Parazit²

- „**Parazit¹**“ (organismus provozující **parazitismus** – nevzájemný vztah mezi organismy): termín může zahrnovat i bakterie, viry a podobně
- „**Parazit²**“ (předmět zájmu lékařské parazitologie): termín je zpravidla používán pro **eukaryotické, někdy vícebuněčné organismy jiné než houby**.
- *Historicky se považovali za mikroskopické „živočichy“ (prvky a červy), avšak dnes se již jednobuněční parazité nepovažují za živočichy a patří do taxonomicky velmi vzdálených skupin*

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 (napadají tkáň? Tvoří nějaké jedovaté látky?)
přenos	Vzduchem? Klíšťaty? apod.
inkubační doba	jak dlouho trvá, než se nemoc na člověku projeví
diagnostika	jak je můžeme poznat
léčba a prevence	co proti nim můžeme dělat

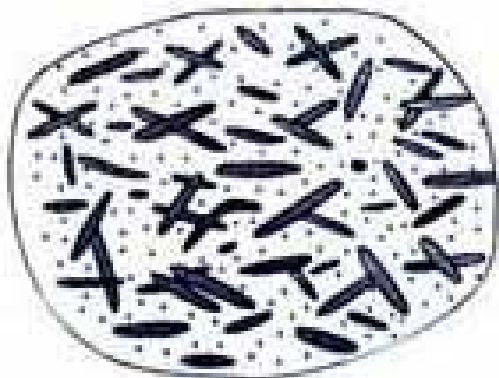
Morfologie a struktura virů

- **Viry** se skládají z jedné nukleové kyseliny (buď **DNA** nebo **RNA**) a **bílkovin**; některé viry mají navíc na svém povrchu membránový obal, který „ukradly“ nějaké hostitelské buňce
- **Viry** mají většinou buďto **kubickou symetrii** (to znamená, že jsou symetrické podle tří navzájem kolmých os) nebo **šroubovicovou symetrii**. Některé viry s kubickou symetrií mohou mít třeba tvar dvanáctistěnu.

O tvarových možnostech virů si snadno můžete sami udělat představu, stačí internetový prohlížeč (např. Google) přepnout na „obrázky“ a do okna prohlížeče napsat slovo „virus“.

Různé tvary virů

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



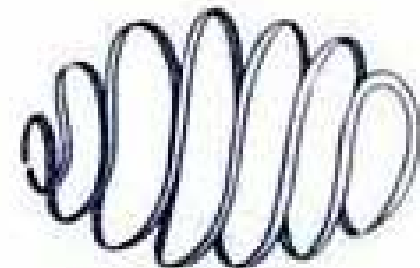
(a) Vaccinia virus



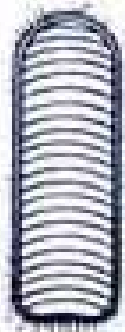
(b) Paramyxovirus (mumps)



(c) Herpesvirus



(d) Orf virus



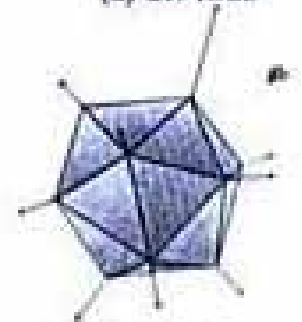
(e) Rhabdovirus



(f) T-even coliphage



(g) Flexuous-tailed phage



(h) Adenovirus



(i) Influenza virus



(m) Tubulovirus

Co jsou to vlastně viry?

- Viry jsou **nebuněčné částičky**, vedou se diskuse, zda se vůbec jedná o organismy
- Vznikly pravděpodobně z buněčných organismů **specializací na parasitismus** („odhozením“ přebytečných částí)
- Asi to ale **organismy jsou**, protože stejně jako buněčné organismy se snaží o „zachování rodu“. Potřebují k tomu ovšem buňku cizího organismu
- Kromě **lidských virů** existují i **viry zvířecí, rostlinné a viry bakterií** (takzvané bakteriofágy)
- Mezi viry nepatří **priony – chyby v bílkovině**

Morfologie bakterií

- **Koky** ve dvojicích (diplokoky), v řetězcích a ve shlucích *(neříkejme jim ale raději „streptokoky“ a „stafylokoky“, bylo by to matoucí – vysvětlení na další stránce)*, někdy také v tetrádách apod.
- **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)

Jak je to s těmi stafylokoky a streptokoky?

- Historicky pojem „stafylokok“ opravdu znamenal jakoukoli kulovitou bakterii, tvořící hrozny. Dnes se ale v mikrobiologii i ve zdravotnictví skoro vždycky pod pojmem „stafylokok“ rozumí výhradně bakterie, které jsou zařazeny do rodu *Staphylococcus*. Koků ve slucích ale existuje mnohem víc rodů.
- Podobně ne každý kok, který tvoří řetízky, dnes patří do rodu *Streptococcus*

Co je a co není spirocheta

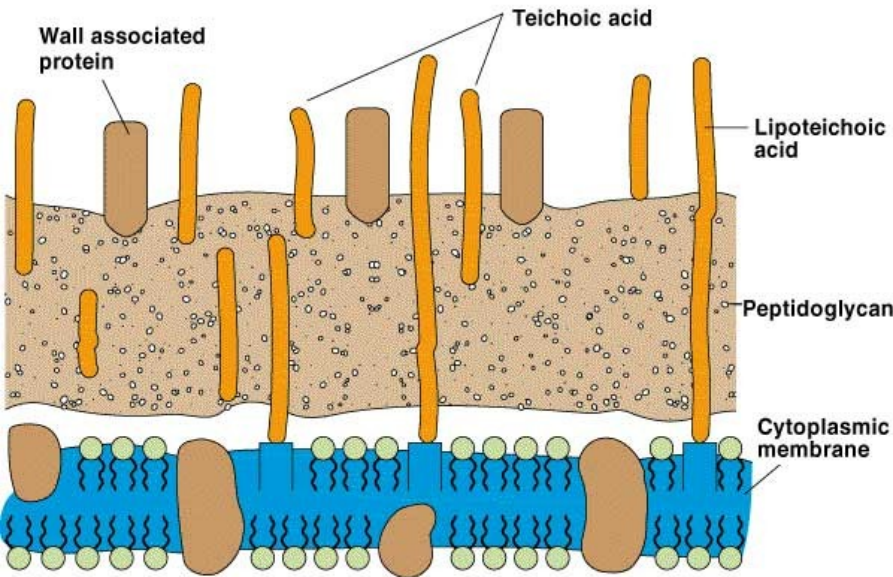
- Za **spirochety** se obvykle považují pouze velice dlouhá, zprohýbaná „niťovitá“ vlákna.
- **Zprohýbaným tyčinkám** se „spirochety“ neříká.
Nanejvýš se u některých může uplatnit pojem spirila.
Typická zprohýbaná tyčinka (ne spirocheta) je helikobakter, který se podílí na žaludečních vředech

Typ buněčné stěny bakterií

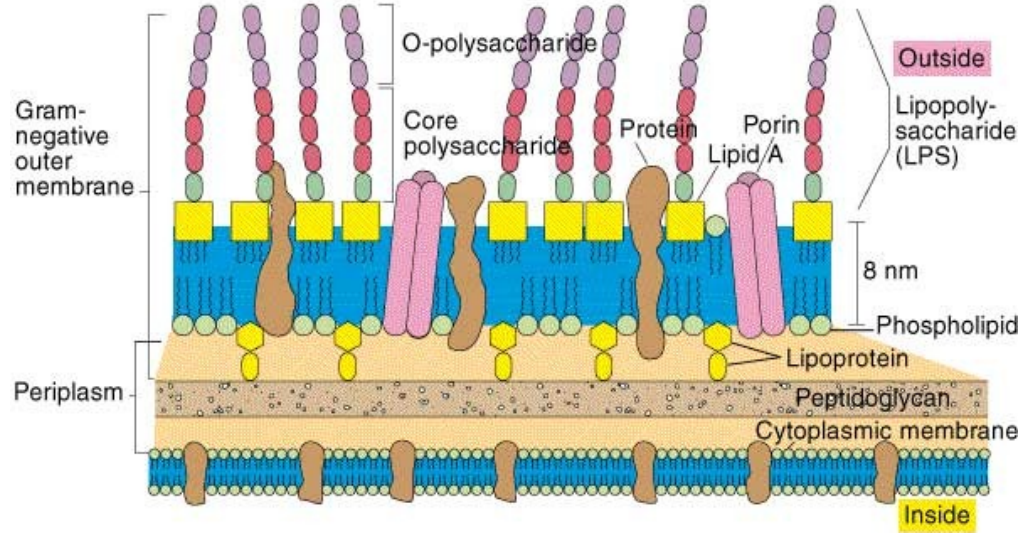
Při hodnocení typu buněčné stěny se vžilo rozdělení podle toho, jak reagují na tzv. Gramovo barvení (bude o něm ještě řeč dále):

- **Gram pozitivní bakterie (G+)** mají tlustou a jednoduchou buněčnou stěnu. Jsou odolné hlavně mechanicky. Při barvení podle Grama jsou tmavě fialové. Například stafylokoky, streptokoky či původce tetanu.
- **Gram negativní bakterie (G-)** mají tenkou, ale o to složitější buněčnou stěnu. Jsou odolné hlavně chemicky. Při barvení podle Grama jsou růžové. Například escherichie, salmonely nebo meningokoky.
- **Gramem se nebarvící bakterie** buněčnou stěnu nemají (takzvaná mykoplasmata) nebo ji mají hodně jinou (původce tuberkulózy), případně jsou tak tenké, že při barvení podle Grama nejsou pořádně viditelné (to se týká hlavně spirochet)

Grampozitivní



Gramnegativní



G+



G-

Fimbrie a bičíky

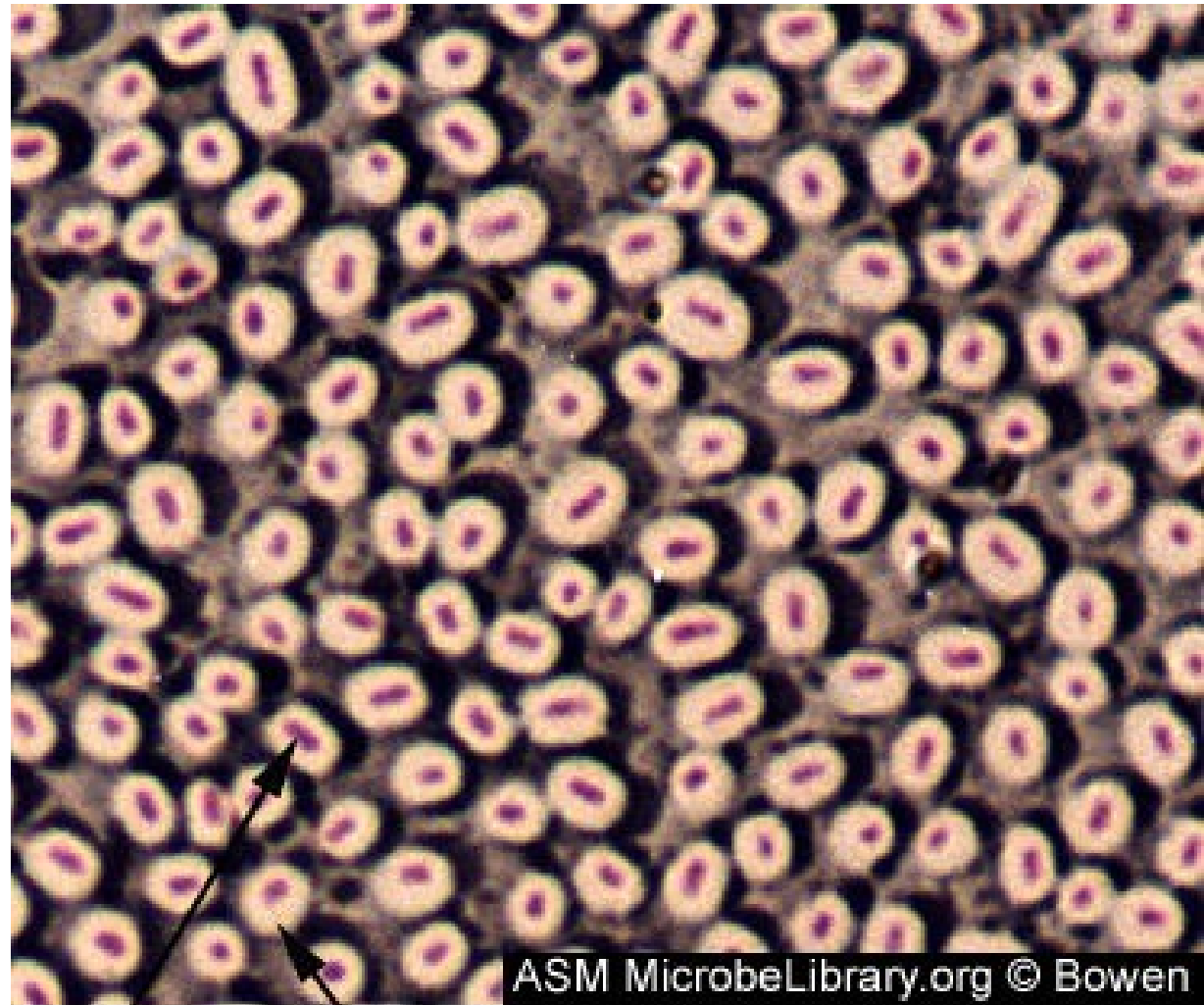
- Mnohé bakterie jsou schopny **pohybu**
- K pohybu bakteriím slouží hlavně **bičíky**
- **Fimbrie** mohou vedle pohybu sloužit např. i k přilnutí bakterie na povrch nebo při **výměně genetické informace**
- Zajímavé je, že bičíky bakterií jsou úplně jiné než bičíky eukaryotních organismů.

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 (planktonická forma je opak biofilmové formy života)

Neobarvené pouzdro

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



ASM MicrobeLibrary.org © Bowen

Cell

Capsule

Endospory

- Vznik endospor, tedy proces takzvané **sporulace** je **něco jako zimní spánek**, (i zde je cílem přežít nepříznivé období) ale dovedený oproti zimnímu spánku zvířat k mnohem větší dokonalosti
- Bakterie se z běžné (takzvané vegetativní) formy transformují do podoby takzvané **endospory**
- Tyto endospory obsahují jen minimum vody, mají velmi tlustou stěnu a jsou extrémně odolné. Přežijí velmi **vysoké teploty, vyschnutí, desinfekci** a podobně

Jak vznikají endospory

- Endospora vzniká tak, že buňka se začne běžným způsobem **dělit** (jako při běžném rozmnožování), ale dceřiné buňky se neoddělí úplně: **jedna z nich se mění ve sporu a ta druhá ji úplně obalí**. Díky tomu můžeme spory pozorovat v mikroskopu: vidíme tu druhou buňku, ze které se spora nestala, a uvnitř je „díra“, což je právě ta spora.
- *Nepletme si endospory bakterií a spory hub – spory hub jsou rozmnožovací útvary, s endosporami nijak nesouvisí*



Životní projevy (fyziologie a metabolismus) bakterií

- Tak jako každý organismus, i bakterie získávají živiny, které štěpí (**katabolismus**), a na druhou stranu také občas budují určité struktury (**anabolismus**). Bakterie jsou ale jednoduché, a tak to u nich funguje trochu jinak než u člověka
- Katabolismus může být trojí (viz na další stránce):

Životní projevy (fyziologie a metabolismus) bakterií

- **Fermentace** – živina (například glukóza) se rozštěpí na organické produkty (například kyselinu mléčnou nebo alkohol) bez potřeby kyslíku. **Nevýhoda:** nezíská se tím moc energie. **Výhoda:** není potřeba kyslík. Využívají to například střevní bakterie
- **Aerobní respirace** – živina (například glukóza) se rozštěpí až na oxid uhličitý a vodu. **Výhoda:** získá se mnohem víc energie. **Nevýhoda:** je potřeba kyslík. Využívají ji bakterie, které nacházíme ve vnějším prostředí, na rostlinách aj.
- **Anaerobní respirace** – jiný akceptor elektronů než kyslík, u lidských bakterií málokdy

Množení bakterií

- Bakterie se množí dělením. Z jedné bakterie za určitou dobu vzniknou dvě, za dvojnásobek té doby čtyři, pak osm a tak dále. Doba, za kterou z určitého množství bakterií vznikne dvojnásobné množství, se nazývá **generační doba**
- Generační doba je ovšem teoretická veličina. V praxi závisí rychlost množení na vnějších podmínkách (teplota, vlhkost, přítomnost záření a podobně) a také na tom, jestli bakteriím **dodáváme živiny a odstraňujeme odpadní produkty** (pak se mohou množit „do nekonečna“, otevřený systém), nebo je **držíme v uzavřeném objemu** (například zkumavce), kde je množství živin konečné.

Substráty

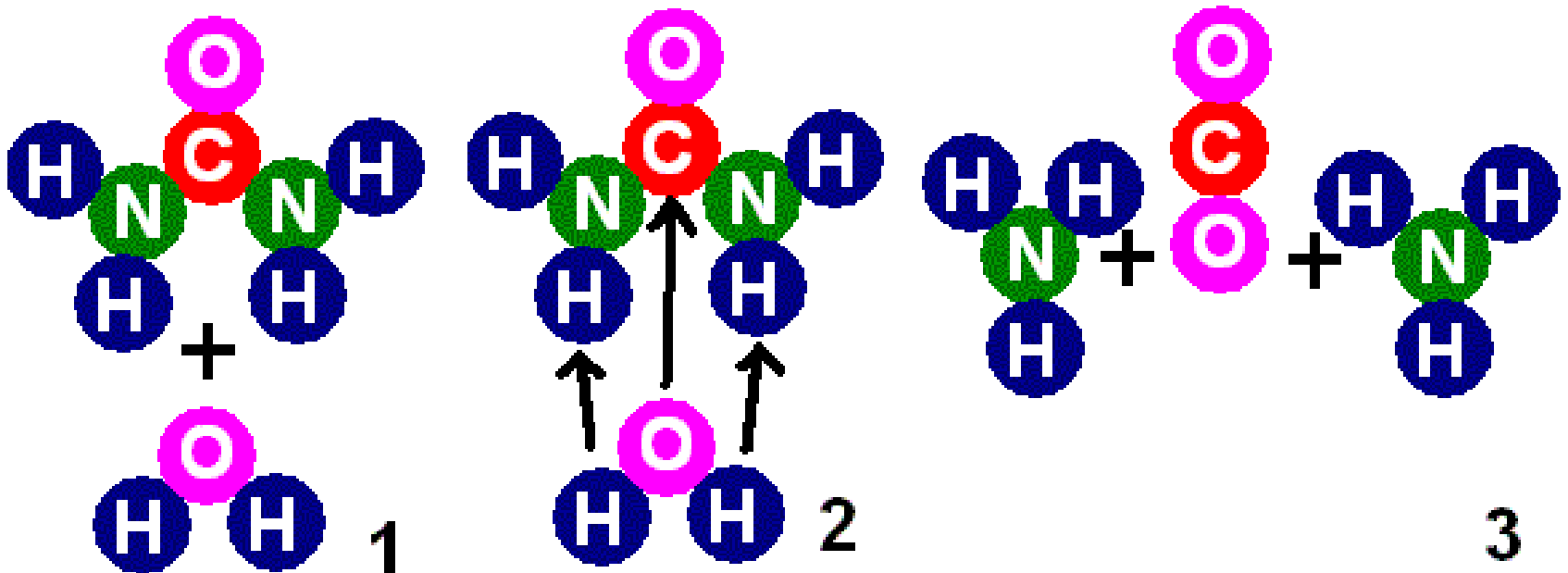
- Pro potřeby svého metabolismu využívají bakterie různé **substráty**. Substrát je látka, kterou bakterie využije – změní ji v jinou látku (produkt). Pokud je substrátem živina (molekula glukózy, jiného cukru, tuku aj.), získává se při jeho štěpení energie.
- Každá bakterie má jinou **škálu substrátů, se kterými si umějí poradit**, tedy 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*

Je každé štěpení substrátu vynuceno potřebou živin?

- Samozřejmě **není**. Stejně jako v lidském organismu, i v bakteriálním organismu probíhají různé procesy.
- *Jeden příklad za všechny: bakterie helicobakter žije ve velmi kyselém prostředí žaludku. Aby přežila, musí si neutralizovat prostředí ve svém nejbližším okolí. Pro tento účel štěpí molekuly močoviny (urey) ve svém okolí. Kyselý oxid uhličitý, jeden z produktů reakce, vyprchá; zásaditý čpavek (amoniak) zůstane a neutralizuje prostředí v těsném okolí bakterie.*

Příklad – štěpení močoviny u helikobaktera

- Tato reakce umožňuje helikobakterům přežít ve vysoce kyselém prostředí žaludeční sliznice. Jak již bylo řečeno, CO_2 vyprchá, NH_3 (NH_4OH) zůstává



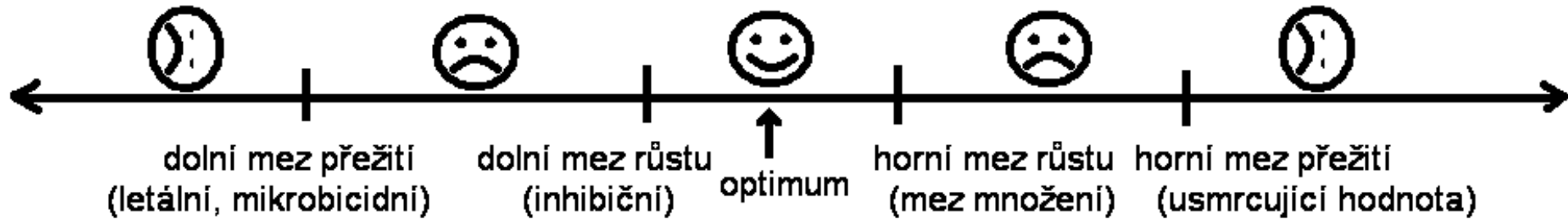
Životní podmínky bakterií „in vivo“ (za živa) i „in vitro“ (na Petriho misce)

- Příklad helikobaktera nám ukázal také další věc: bakterie pro svůj život potřebují určité **rozmezí pH, teploty a dalších faktorů**. Některé (helikobakter) zvládají i poměrně extrémní podmínky, pro většinu to ale neplatí.
- Do příslušného rozmezí se musíme vejít, pokud chceme bakterie **uměle pěstovat** (třeba abychom je přitom mohli určovat)

Množí se – přežívá – hyne

- Některá kombinace faktorů umožňují mikrobům, aby se (rychleji nebo pomaleji) **množily**. Jiná kombinace jim umožní **přežít, ale množit se už ne**, a ještě jiná znamená, že mikroby hynou
- Co je ale důležité pro praxi?
 - Když chceme bakterie **hubit** (při desinfekci, sterilizaci a podobně), musí mikroby při dané kombinaci a vhodném čase **hynout**
 - Když naopak chceme bakterie **pěstovat**, musí být schopny se **pomnožovat**. Nestačí tedy, aby nehynuly.

Pro lepší pochopení si ukažme, jak to funguje třeba v případě pH



- Velmi kyselé prostředí (nízké pH) bakterie **zabíjí**, stejně jako velmi alkalické prostředí (vysoké pH).
- Mírně kyselé i mírně alkalické prostředí bakteriím umožní **přežít, ale ne už se množit**
- Existuje určité rozmezí, ve kterém se bakterie množí. V rámci tohoto rozmezí (ne nutně přesně uprostřed) existuje **hodnota, pH, při které se množí nejrychleji (optimum)**

Jak je to s jinými faktory



- Podobně to funguje **třeba i u teploty** s tím rozdílem, že velmi nízké teploty bakterie spíše konzervují, než ničí
- **Koncentrace desinfekčního prostředku** nemůže mít menší hodnotu než nula, a proto v tomto případě ze čtyř mezí dávají logický smysl jen dvě
- Takto stanovené meze platí jen v případě, že neměníme ostatní faktory. V reálném životě se ovšem faktory vzájemně kombinují
- A vždycky významně působí **časový faktor**. Není jedno, jestli určitou teplotou působilme například pět, anebo dvacet minut. To je důležité například při použití sterilizátorů

Mikroby a makroorganismus (= organismus hostitele)

- Z hlediska klinické mikrobiologie je významný **vztah mikroorganismus – makroorganismus** (což může být člověk, ale také zvíře či rostlina)
- Může jít o **symbiózu** (přítomnost jednoho ovlivňuje růst druhého pozitivně), **neutrální vztah** či **antibiózu** (přítomnost jednoho škodí druhému)
- Z potravního hlediska může jít o **komensalismus**, **saprofytismus** nebo **parazitismus** (výklad těchto pojmů viz středoškolské učivo, případně internet)
- **Ne vždycky se dají mikroby jednoduše „zaškatulkovat“**. Často záleží na okolnostech, jestli bude mikrob „zlý“ nebo „hodný“

Na shledanou za týden!

