

učební texty Univerzity Karlovy v Praze

**PRINCIPY** Oto Melter  
Annika Malmgren  
**A PRAKTIKA**  
**LÉKAŘSKÉ**  
**MIKROBIOLOGIE**

# Principy a praktika lékařské mikrobiologie

**MVDr. Oto Melter, Ph.D.**

**Annika Malmgren**

---

Recenzovaly:

MUDr. Eliška Běbrová

MUDr. Tamara Bergerová

Autoři:

MVDr. Oto Melter, Ph.D.

Ústav lékařské mikrobiologie

2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha

Annika Malmgren, studentka medicíny

2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha

Vydala Univerzita Karlova v Praze, Nakladatelství Karolinum

jako učební text pro 2. lékařskou fakultu UK

Obálka Kateřina Řezáčová

Sazba DTP Nakladatelství Karolinum

1. vydání

© Univerzita Karlova v Praze, 2014

© Oto Melter, Annika Malmgren, 2014

Text neprošel jazykovou ani redakční úpravou nakladatelství

ISBN 978-80-246-2414-3

ISBN 978-80-246-2545-4 (online : pdf)



Univerzita Karlova v Praze  
Nakladatelství Karolinum 2014

<http://www.cupress.cuni.cz>



# OBSAH

Úvod .....	9
<b>1. Pravidla bezpečnosti práce .....</b>	<b>11</b>
1.1 Cíle dodržování pravidel bezpečnosti .....	11
1.2 Principy .....	11
<b>OBECNÁ MIKROBIOLOGIE</b>	
<b>2. Odběr materiálu a principy diagnostiky .....</b>	<b>13</b>
2.1 Odběr materiálu a transport .....	13
2.2 Materiál a metody .....	13
2.3 Podmínky pro odběr a transport vzorků .....	14
2.4 Žádanka .....	15
2.5 Principy diagnostiky v lékařské mikrobiologii .....	15
2.6 Světelná mikroskopie .....	15
2.7 Základní barvení v klinické mikrobiologii .....	16
2.7.1 Příprava preparátu .....	16
2.7.2 Bakteriální buněčná stěna a barvení podle Grama .....	16
2.8 Praktická část – odběr materiálu a principy diagnostiky .....	17
2.9 Kvíz .....	19
<b>3. Přímý průkaz a typizace původců infekce .....</b>	<b>21</b>
3.1 Definice přímé detekce a typizace .....	21
3.2 Mikroskopické techniky .....	21
3.3 Aplikace genotypových metod .....	23
3.3.1 Princip amplifikace DNA pomocí polymerázové řetězové reakce .....	23
3.3.2 Princip hybridizace DNA .....	24
3.3.3 Princip sekvenčních metod .....	24
3.4 Přímý průkaz původce jinými metodami .....	25
3.4.1 Imunochromatografické metody .....	25
3.5 Praktická část – přímý průkaz a typizace původců infekce .....	25
3.6 Kvíz .....	27
<b>4. Kultivace původců infekčních nemocí .....</b>	<b>29</b>
4.1 Definice kultivace .....	29
4.2 Kultivace bakterií, virů a parazitů .....	29
4.3 Půdy pro kultivaci bakterií .....	30
4.4 Bakteriální kultury .....	31
4.5 Podmínky kultivace .....	32
4.6 Speciální barvicí techniky .....	32

4.7	Praktická část – kultivace původců infekce	32
4.8	Kvíz	34
<b>5.</b>	<b>Testování citlivosti k antibiotikům</b>	<b>35</b>
5.1	Antibiotika – mechanismus účinku a rezistence	35
5.2	Testování citlivosti k antibiotikům	35
5.3	Základní metody	35
5.4	Interpretace výsledků	36
5.5	Ostatní metody	37
5.6	Praktická část – testování citlivosti k antibiotikům	38
5.7	Kvíz	39
<b>6.</b>	<b>Identifikace původců infekčních nemocí</b>	<b>41</b>
6.1	Definice identifikace a klasifikace	41
6.2	Fenotypové metody identifikace	42
6.3	Aplikace fenotypových metod	44
6.4	Genotypová identifikace	45
6.5	Praktická část – identifikace původců infekčních nemocí	46
6.6	Kvíz	47
<b>7.</b>	<b>Sérologie – průkaz specifických protilátek</b>	<b>49</b>
7.1	Imunitní odpověď	49
7.2	Antigen a protilátky	49
7.3	Základní sérologické metody	50
7.4	Aplikace sérologických metod	51
7.5	Praktická část – sérologie	53
7.6	Kvíz	54
<b>8.</b>	<b>Obecná mykologie</b>	<b>55</b>
8.1	Houby	55
8.2	Dělení hub	55
8.3	Diagnostika	56
8.3.1	Mikroskopie	56
8.3.2	Kultivace	57
8.3.3	Identifikace	57
8.4	Stanovení citlivosti na antimykotika	60
8.5	Sérologické metody	60
8.6	Detekce hub pomocí molekulárních metod přímo v klinickém materiálu	60
8.7	Praktická část – obecná mykologie	61
8.8	Kvíz	62
<b>9.</b>	<b>Obecná virologie</b>	<b>63</b>
9.1	Definice viru	63
9.2	Historie	64
9.3	Elektronová mikroskopie	64
9.4	Průkaz virů jinými metodami	64
9.5	Praktická část – obecná virologie	67
9.6	Kvíz	68
<b>10.</b>	<b>Obecná parazitologie</b>	<b>69</b>
10.1	Parazitismus, parazit a hostitelé parazitů	69
10.2	Obecná klasifikace parazitů	69
10.3	Diagnostické metody	71
10.4	Vzorky a diagnostika	71
10.5	Praktická část – identifikace původců parazitárních infekcí	72
10.6	Kvíz	74

<b>11. Molekulární mikrobiologie a epidemiologie</b>	75
11.1 Definice	75
11.2 Syntéza bakteriální buněčné stěny	75
11.3 Geny rezistence k antibiotikům	76
11.4 Regulace genů rezistence	76
11.5 Klonální analýza (typizace)	77
11.6 Praktická část – molekulární mikrobiologie a epidemiologie	78
11.7 Kvíz	79

## **SPECIÁLNÍ MIKROBIOLOGIE**

<b>12. Stafylokoky</b>	81
12.1 Obecné vlastnosti	81
12.2 Faktory virulence a patogeneze	81
12.3 Infekce	82
12.4 Léčba a prevence	82
12.5 Diagnostika	82
12.6 Praktická část – stafylokoky	84
12.7 Kvíz	85
<b>13. Streptokoky a enterokoky</b>	87
13.1 Obecné vlastnosti	87
13.2 Klasifikace	87
13.3 Faktory virulence a patogeneze	87
13.4 Infekce a pozdní následky streptokokových infekcí	88
13.5 Léčba a prevence	88
13.6 Diagnostika	88
13.7 Praktická část – streptokoky a enterokoky	91
13.8 Kvíz	92
<b>14. Korynebakterie a listerie</b>	93
14.1 Obecné vlastnosti	93
14.2 Faktory virulence a patogeneze	93
14.3 Infekce a epidemiologie	94
14.4 Léčba a prevence	94
14.5 Diagnostika	94
14.6 Praktická část – korynebakterie a listerie	96
14.7 Kvíz	98
<b>15. Enterobakterie a enteropatogeny</b>	99
15.1 Obecné vlastnosti	99
15.2 Faktory virulence a patogeneze	99
15.3 Infekce a epidemiologie	100
15.4 Léčba a prevence	100
15.5 Diagnostika	100
15.6 Praktická část – enterobakterie a enteropatogeny	102
15.7 Kvíz	104
<b>16. Anaerobní bakterie</b>	105
16.1 Obecné vlastnosti	105
16.2 Faktory virulence a patogeneze	105
16.3 Infekce a epidemiologie	105
16.4 Léčba a prevence	106
16.5 Diagnostika	106
16.6 Praktická část – anaerobní bakterie	108
16.7 Kvíz	110

<b>17. <i>Neisseria, Bordetella a Haemophilus</i></b> .....	111
17.1 Obecné vlastnosti .....	111
17.2 Faktory virulence a patogeneze .....	111
17.3 Infekce a epidemiologie .....	111
17.4 Léčba a prevence .....	112
17.5 Diagnostika .....	113
17.6 Praktická část – <i>Neisseria, Bordetella, Haemophilus</i> .....	115
17.7 Kvíz .....	116
<b>18. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> a nefermentující tyčinky</b> .....	117
18.1 Obecné vlastnosti .....	117
18.2 Faktory virulence a patogeneze .....	117
18.3 Infekce a epidemiologie .....	118
18.4 Léčba a prevence .....	118
18.5 Diagnostika .....	118
18.6 Praktická část – <i>Pseudomonas aeruginosa</i> a nefermentující tyčinky .....	120
18.7 Kvíz .....	122
<b>19. Mykobakterie</b> .....	123
19.1 Obecné vlastnosti .....	123
19.2 Klasifikace mykobakterií .....	123
19.3 Faktory virulence a patogeneze .....	123
19.4 Infekce a epidemiologie .....	124
19.5 Léčba a prevence .....	124
19.6 Diagnostika .....	125
19.7 Praktická část – mykobakterie .....	126
19.8 Kvíz .....	128
<b>20. Kvasinky</b> .....	129
20.1 Obecné vlastnosti .....	129
20.2 Faktory virulence a patogeneze .....	129
20.3 Infekce a epidemiologie .....	129
20.4 Léčba a prevence .....	130
20.5 Diagnostika .....	130
20.6 Praktická část – kvasinky .....	132
20.7 Kvíz .....	133
<b>21. Členovci</b> .....	135
21.1 Obecné vlastnosti .....	135
21.2 Klasifikace .....	135
21.3 Patogeneze .....	135
21.4 Infekce způsobené nebo přenášené členovci .....	135
21.5 Léčba a prevence .....	136
21.6 Diagnostika .....	137
21.7 Praktická část – členovci ( <i>Arthropoda</i> ) .....	138
21.8 Kvíz .....	139



# ÚVOD

V lékařské mikrobiologii denně přibývá ohromné množství nových informací. Detailní informace jsou často však tak komplexní, že mohou značně komplikovat situaci jak studentů medicíny, tak lékařů samotných. Tato publikace byla vytvořena s cílem zjednodušit pochopení vztahů mezi teorií a praxí současné lékařské mikrobiologie. Základní mikrobiologické informace jsou v jednotlivých kapitolách přehledně zpracovány podle údajů v prestižních publikacích (Brooks et al.: *Jawetz, Melnick & Adelbergs' Medical Microbiology*, 24<sup>th</sup> edition, LANGE, 2007; *Lippincott's Illustrated Reviews, Microbiology*, 2<sup>nd</sup> edition, Lippincott Williams & Wilkins, 2007; Murray et al.: *Medical Microbiology*, 5<sup>th</sup> edition, Elsevier Mosby, 2005) a na základě vlastních zkušeností obou autorů.

Každá kapitola obsahuje teoretickou část, poskytující studentům základní informace, a praktickou část, která jim umožní vyzkoušet si v laboratoři lékařské mikrobiologie některé základní postupy v diagnostice infekčních nemocí. Věříme, že originální fotografie a schémata pomohou k pochopení základních principů mikrobiologické diagnostiky. Kvíz na konci každé kapitoly umožňuje studentům otestovat si své znalosti z dané problematiky.

## Poděkování

Děkujeme za přečtení rukopisu a mimořádně cenné připomínky MUDr. Jiřímu Kadeřábkoví. Rádi bychom také poděkovali všem kolegům a zejména těm, kteří připravili kapitoly z parazitologie (Ing. Jan Urban, Ph.D.), virologie (MUDr. Petr Hubáček, Ph.D.) a mykologie (MUDr. Vanda Chrenková) včetně obrazové přílohy. Jsme rovněž rádi, že se recenze ujali zkušení kolegové prim. MUDr. Eliška Běbrová (Ústav lékařské mikrobiologie 2. LF UK v Motole) a prim. MUDr. Tamara Bergerová (Ústav mikrobiologie, FN Plzeň).



# 1 PRAVIDLA BEZPEČNOSTI PRÁCE

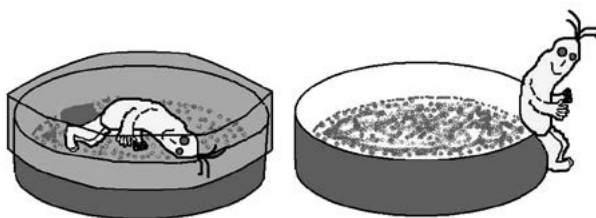
## 1.1 Cíle dodržování pravidel bezpečnosti

Cílem dodržování pravidel bezpečnosti v mikrobiologické laboratoři je snížit nebo eliminovat riziko expozice původci infekčních nemocí:

- a) laboratorních pracovníků
- b) jiných osob
- c) prostředí

## 1.2 Principy

1. Používejte pracovní plášť a jiné ochranné pomůcky při manipulaci s infekčním materiálem nebo bakteriálními kulturami. Tyto ochranné pomůcky používejte pouze v prostorách laboratoře.
2. Nejezte, nepijte, nekuřte a nedotýkejte se úst, očí a nosu v laboratoři.
3. Materiál pro mikrobiologické vyšetření zpracovávejte pouze na vyhrazeném místě.
4. Udržujte pořádek v pracovním prostoru.
5. Sterilizujte bakteriologické kličky nad plamenem nebo používejte jednorázové kličky.
6. Po práci s mikrobiální kulturou uzavřete víčkem Petriho misky, zkumavky a lahvičky (obr. 1.1).
7. Desinfikujte použité laboratorní sklo nebo jiné předměty uložením do desinfekčního roztoku. V případě použití se jednorázový materiál odstraňuje do speciálního kontejneru.
8. Desinfikujte kůži, sliznici ústní dutiny nebo pracovní povrchy okamžitě po kontaminaci mikrobiální kulturou nebo klinickým materiálem.
9. Po manipulaci s potenciálně infekčním materiálem nebo mikrobiálními kulturami si umyjte a vydesinfikujte ruce.
10. Všechny nehody v laboratoři, jako je např. rozliti infekčního materiálu, rozbití zkumavky apod., se musí okamžitě nahlásit vyučujícímu.
11. Dodržujte požární předpisy při práci s otevřeným ohněm.
12. Odnášet materiál z laboratoře je přísně zakázáno.



**Obr. 1.1** Dodržujte pravidla bezpečnosti, abyste zamezili kontaminaci prostředí a předcházeli vzniku infekce

# 2 ODBĚR MATERIÁLU A PRINCIPY DIAGNOSTIKY

## 2.1 Odběr materiálu a transport

**Kvalita mikrobiologického výsledku je přímo závislá na kvalitě vzorku (obr. 2.1)!** Nezbytným předpokladem pro příjem vzorku je řádná **identifikace pacienta** – jméno, příjmení, rodné číslo nebo číslo pojištění.



**Obr. 2.1** Tři nezbytné součásti mikrobiologického vyšetření: 1. odběr materiálu a transport, 2. výsledky, 3. interpretace

## 2.2 Materiál a metody

Vzorky jsou odebírány od pacientů na oddělení nebo v ambulanci přítlačným a rotujícím sterilním vatovým nebo dakronovým výtěrovým tampónem do zkumavek, kontejnerů apod. (obr. 2.2). Výtěrovkou se odebírá vzorek zejména z povrchů (sliznice, kůže), případně ran. Výtěrovka se zanoří do transportního média (médium bez živin – počet mikrobiálních zárodků se nezvyšuje během skladování nebo transportu a zárodky nevysychají). Tekutiny a tkáně jsou odebírány do zkumavek a kontejnerů. Hemokultury, zejména od febrilních pacientů za účelem diagnostiky infekce krevního řečiště při systémových infekcích, se po desinfekci místa odběru asepticky odebírají do hemokultivačních lahvíček pro kultivaci aerobní, anaerobní a kultivaci hub – poslední pouze při podezření na systémovou mykotickou infekci (obr. 2.2). U dospělých pacientů se odebírá 10–20 ml krve a u dětí podle věku 0,5–4 ml krve. Frekvence (obvykle opakovaný odběr pro aerobní a anaerobní hemokultivaci) a časování odběrů hemokultur se řídí charakterem klinického obrazu a teplotní křivky.