

# MIKROBIOLOGIE A IMUNOLOGIE

doc. MUDr. Petr Kučera, Ph.D., doc. MUDr. Jan Novák, Ph.D., prof. RNDr. Ilona Hromadníková, MUDr. Milada Cvačková, Mgr. Daniela Plánská

**Rozsah: 10 vyučovacích hodin, 15 hodin konzultací**

## Úvod – Pojetí a cíle předmětu

Předmět imunologie navazuje na znalosti biologie, anatomie a fyziologie. Cílem je jednak seznámení se strukturami a fyziologickou funkcí imunitního systému, orientačně pak s poruchami imunitních funkcí. Důraz je kladen demonstraci vztahu funkce imunitního systému a prostředí člověka, vzniku onemocnění, kdy je příčinou porucha imunitní funkce navozená vlivy okolního prostředí. Pozornost je věnována preventivní intervenci s cílem dosáhnout redukce nebo eliminace infekčního onemocnění v populaci a ochrany jedince (imunologické principy vakcinace).

Předmět mikrobiologie se věnuje popisu vztahu mikrob-hostitel z hlediska vlastností infekčního agens i z hlediska vnímavosti a imunitní odpovědi hostitele.

Hlavním cílem mikrobiologického vyšetření je průkaz mikroorganismů ve vzorcích klinického materiálu. Tzv. přímý průkaz je obvykle mikroskopický a kulturační. Součástí kulturačního vyšetření je i následná identifikace izolovaného mikroba, eventuálně stanovení jeho citlivosti k antimikrobiálním látkám. Zvláštní variantou přímého průkazu etiologického agens je důkaz jeho antigenů ve vyšetřovaném materiálu. Příkladem může být průkaz povrchového antigenu viru hepatitidy B. K metodám přímého průkazu lze přiřadit důkaz mikrobiálních produktů a složek ve zkoumaném vzorku. Kromě průkazu bakteriálních toxinů (např. botulotoxin) sem patří i průkaz mikrobiálních nukleových kyselin. Do rutinní praxe se promítl průkaz DNA *Mycobacterium tuberculosis* metodou PCR a průkaz DNA *Chlamydia trachomatis* genetickou sondou.

U některých původců infekcí není jejich přímý průkaz možný nebo jen velice obtížný. V takovýchto případech (příkladem může být syfilis, leptospirózy nebo tularemie) se diagnostika vyvolavatele onemocnění opírá především o průkaz nepřímý, představovaný detekcí protilátek v séru pacienta.

I dobře odebraný vzorek materiálu může být následně znehodnocen nesprávným způsobem skladování (to v případě, že materiál nelze odeslat do laboratoře ihned po odběru) nebo nevhodným způsobem transportu.

Cílem předmětu je osvojení základních medicínských pojmů, znalostí a dovedností v oboru mikrobiologie tak, aby absolvent - asistent ochrany a podpory veřejného zdraví, byl schopen komunikovat s odbornou zdravotnickou veřejností v případě svého působení na těchto pracovištích. Dalším cílem předmětu je seznámit studenty se základy patogenního působení mikroorganismů, způsobů jejich přenosu, metod jejich laboratorního průkazu a metod

stanovení specifické terapie, je-li to na místě.

## Obsah

1. Imunitní systém – struktura a funkce
2. Onemocnění na podkladě poruch imunity
3. Definice a vývoj oboru mikrobiologie
4. Základní vlastnosti mikroorganismů
5. Proces šíření nákazy a formy výskytu nálezů
6. Přímý a nepřímý průkaz původce infekčního onemocnění
7. Základy odběru a zpracování materiálu pro mikrobiologické vyšetření
8. Septický stav jako příklad patologického vztahu mikroorganismus – hostitel
9. Alimentární nákazy

### 1. Imunitní systém – struktura a funkce

#### Časový rozsah

1 výuková jednotka = 2 vyučovací hodiny (2 x 45 min)

#### Cíle

Cílem přednášky je vysvětlení základních imunologických pojmů, seznámení se se strukturami a fyziologickými funkcemi imunitního systému a některými laboratorními metodami jeho testování.

#### Klíčová slova

Funkce imunitního systému, antigen, struktura imunitního systému, buňky a molekuly imunitního systému, druhy a aktivace imunitních mechanismů, nespecifická a specifická imunita a možnosti jejího testování.

#### Pojmy k zapamatování

1. Funkce imunitního systému – obranyschopnost, autotolerance, imunitní dohled
2. Antigen – epitop, exoantigen, autoantigen
3. Struktura imunitního systému – lymfatické tkáně a orgány. Lymfatické orgány primární a sekundární. Primární lymfatické orgány (= místa vzniku, diferenciací a zrání imunokompetentních buněk) – kostní dřeň a thymus. Sekundární lymfatické orgány a lymfatické tkáně (= místa průběhu hlavních fází antigenně specifických imunitních reakcí) – slezina, lymfatické uzliny, slizniční lymfatická tkáň.
4. Buňky imunitního systému – leukocyty. Myeloidní (monocyty, makrofágy, granulocyty, dendritické buňky) a lymfoidní (NK buňky, T a B lymfocyty) linie leukocytů.

5. Molekuly imunitního systému – antigenně specifické receptory B a T lymfocytů, Fc receptory, adhezivní molekuly, MHC molekuly (lidské HLA). Komplementový systém, cytokiny, protilátky.

6. Druhy imunitních mechanismů - nespecifické (neadaptivní) a specifické (adaptivní) a jejich aktivace.

7a. Nespecifická imunita buněčná – fagocytující (granulocyty, monocyty, dendritické buňky, žírné buňky, makrofágy) a přirozené cytotoxické buňky (NK buňky). Prezentace antigenu a průběh fagocytózy.

7b. Nespecifická imunita humorální – komplementový systém, sérové proteiny. Cesty aktivace komplementového systému – klasická a alternativní.

8. Specifická imunita – MHC molekuly I. a II. třídy. T lymfocyty a jejich subpopulace (Th1, Th2 – pomocné, Tc – cytotoxické, paměťové T lymfocyty). B lymfocyty. Třídy protilátek (IgA, IgG, IgM, IgE, IgD) – stavba a funkce. T a B lymfocyty v imunitních reakcích.

10. Metody testování buněčné imunity – průtoková cytometrie, metody stanovení funkční aktivity lymfocytů (proliferační, cytotoxicity, sekrece cytokinů), testy fagocytárních funkcí (test ingesce, test oxidačního vzplanutí).

11. Metody testování humorální imunity – aglutinace, turbidimetrie a nefelometrie, ELISA, elektroforéza a imunofixace, nepřímá imunofluorescence.



### **Kontrolní otázky a úkoly**

1. Definujte autotoleranci.
2. Definujte exoantigen.
3. Do jakých celků je uspořádána slizniční lymfatická tkáň?
4. Doplňte větu: „ Prekurzorem leukocytů jsou .....
5. Definujte komplement a popište klasickou cestu jeho aktivace.
6. Popište průběh fagocytózy.
7. Popište strukturu IgG.
8. Vysvětlete základní principy průtokové cytometrie.
9. Vysvětlete princip aglutinace.



### **Literatura**

#### Povinná:

Jilek, J.: Základy imunologie. Anyway, s.r.o. neprodejná publikace (k zapůjčení v sekretariátu Ústavu imunologie)

nebo

Hořejší, V. a Bartůňková, J.: Základy imunologie. Triton 1998, 2002, 2005, 2009

#### Rozšiřující:

Stites, D. a spol.: Základní a klinická imunologie. Victoria Publishing 1994

Fučíková a kol.: Základy klinické imunologie. RDI PRESS 1994

Fučíková, T.: Klinická imunologie v praxi. Galén, Praha 1997.

Bartůňková, J.: Imunodeficiency. Grada 2002

Krejsek, J. a Kopecký, O.: Klinická imunologie. Nucleus HK, 2004

## E -mail

doc. MUDr. Petr Kučera, Ph.D.: [petr.kucera@lf3.cuni.cz](mailto:petr.kucera@lf3.cuni.cz)

Mgr. Daniela Plánská: [daniela.planska@lf3.cuni.cz](mailto:daniela.planska@lf3.cuni.cz)

## 2. Onemocnění na podkladě poruch imunity

### Časový rozsah

1 výuková jednotka = 2 vyučovací hodiny (2 x 45 min)

### Cíle

Cílem semináře je seznámení se základními poruchami imunitních funkcí, rámcové pochopení vztahu funkce imunitního systému a prostředí člověka, vzniku onemocnění, kdy je příčinou porucha imunitní funkce navozená vlivy okolního prostředí. Cílem této výukové jednotky je rovněž seznámení s možnostmi preventivní intervence, jejímž účelem je dosažení redukce nebo eliminace infekčního onemocnění v populaci a ochrany jednotlivce.

### Klíčová slova

Kůže a sliznice, zánět, imunitní odpověď proti infekci, imunotoxikologie, reakce hypersenzitivity, autoimunitní onemocnění, výživa a imunitní systém, vakcinace.

### Pojmy k zapamatování

1. Kůže a sliznice - fyziologická mikroflóra, infekční agens, slizniční imunitní systém.
2. Zánět – definice a jednotlivé fáze (iniciační, vrcholná, reparační). Buněčné složky zánětu: buňky cirkulující a rezidentní. Humorální složky zánětu: vazoaktivní látky, chemotaktické faktory, enzymatické a proteolytické mediátory. C-reaktivní protein (CRP).
3. Imunitní odpověď proti infekci – virové, bakteriální, parazitární.
4. Imunotoxikologie – xenobiotika (nízkomolekulární, vysokomolekulární) a jejich působení na imunitní systém.
5. Reakce hypersenzitivity – rozdělení imunopatologických reakcí dle Coombse a Gella: humorální (I., II., III. typu) a buněčné (IV. typu). Definice a průběh jednotlivých imunopatologických reakcí.
6. Autoimunitní onemocnění – příčiny a mechanismy vzniku. Humorální a buněčná autoreaktivita. Autoimunitní onemocnění systémová a orgánově specifická. Autoprotilátky orgánově specifické a nespecifické.
7. Výživa a imunitní systém – vliv nadváhy, obezity a malnutrice na imunitní systém.

8. Vakcinace – základní mechanismy, imunizace aktivní a pasivní. Typy vakcín (živé oslabené, usmrčené, inaktivované toxiny a toxoidy, podjednotkové vakcíny). Protilátková odpověď.

### **Kontrolní otázky a úkoly**

1. Uveďte některé mikroorganismy, které tvoří fyziologickou mikroflóru kůže.
2. Vysvětlete funkci a klinický význam CRP.
3. Uveďte možnosti přenosu parazitární infekce.
4. Uveďte příklady nízkomolekulárních xenobiotik.
5. Definujte reakci hypersenzitivity II. typu.
6. Uveďte příklady orgánově specifických autoprotilátek.
7. Uveďte příklad podjednotkové vakcíny.

### **Literatura**

#### Povinná:

Jilek, J.: Základy imunologie. Anyway, s.r.o. neprodejná publikace (k zapůjčení v sekretariátu Ústavu imunologie)

nebo

Hořejší, V. a Bartůňková, J.: Základy imunologie. Triton 1998, 2002, 2005, 2009

#### Rozšiřující:

Stites, D. a spol.: Základní a klinická imunologie. Victoria Publishing 1994

Fučíková a kol.: Základy klinické imunologie. RDI PRESS 1994

Fučíková, T.: Klinická imunologie v praxi. Galén, Praha 1997.

Bartůňková, J.: Imunodeficiency. Grada 2002

Krejsek, J. a Kopecký, O.: Klinická imunologie. Nucleus HK, 2004

### **E-mail**

doc. MUDr. Petr Kučera, Ph.D.: [petr.kucera@lf3.cuni.cz](mailto:petr.kucera@lf3.cuni.cz)

Mgr. Daniela Plánská: [daniela.planska@lf3.cuni.cz](mailto:daniela.planska@lf3.cuni.cz)

### **3. Základy odběru a zpracování materiálu pro mikrobiologické vyšetření**



**Časový rozsah:** 2 hodiny

1. hodina - teoretické informace nutné k pochopení významu správného odběru a transportu vzorků. Přímý a nepřímý průkaz původce.

2. hodina – Metody přímého a nepřímého průkazu.



## Cíle

Pochopit důvod laboratorního mikrobiologického vyšetření. Pochopit princip metod průkazu původce.



## Klíčová slova

Mikroskopie, kultivace, PCR, serologie



## Definice

Mikrobiologické laboratorní vyšetření a samozřejmě i klinické závěry jsou závislé na validitě diagnostických testů. Ty závisejí na vhodném výběru a správném provedení odběru a transportu vzorku.



## Anotace a základní pojmy

Základním požadavkem klinického lékaře - zadavatele mikrobiologického laboratorního vyšetření - je nalezení či ověření přítomnosti infekčního původce jako předpokládané příčiny klinické symptomatologie pacienta, případně návrh léčby a monitorování léčby. Ke správné spolupráci mikrobiologa s klinickým či ambulantním lékařem a ke správnému pochopení dodaného laboratorního výsledku je nezbytné, aby klinický lékař, který vyšetření indikuje, lékařské mikrobiologii v potřebném rozsahu rozuměl. Příklad: pacient trpí bolestmi v krku, má zvýšenou teplotu a zarudlé hrdlo. Ošetřující lékař indikuje bakteriologické vyšetření výtěru z krku. Výsledek je: Streptococcus pyogenes. Lékař zde k tomu musí vědět

-jak správně odebrat výtěr z krku

-že Streptococcus pyogenes není součástí běžné faryngeální flóry, ale způsobuje m.j. angínu

-že Streptococcus pyogenes je vždy citlivý na penicilin, který je lékem volby

Způsoby průkazu infekčního původce (bakterie, viru, prvoka) v pacientově organismu jsou dva:

Průkaz přímý - v odebraném materiálu jsou hledány známky přítomnosti infekčního agens. Lze podle okolností provést mikroskopicky, kultivačně, imunologicky nebo geneticky.

Průkaz nepřímý - v organismu pacienta jsou hledány známky probíhající imunitní odpovědi proti předpokládanému infekčnímu agens. Zpravidla jsou zde hledány protilátky proti půvoci (v odebrané krvi - serologické vyšetření), někdy se místo toho prokazují imunní T-lymfocyty (nejčastěji kožním testem - to již není rutinní mikrobiologické vyšetření).

Klinický lékař musí vědět, jakou metodou se každý konkrétní původce prokazuje, aby věděl, jaký materiál k vyšetření odebrat a jak jej transportovat. U běžných bakteriálních infekcí volíme spíše kultivační průkaz, u běžných virových infekcí serologické vyšetření anebo průkaz virových antigenů, u běžných parazitárních infekcí mikroskopický průkaz. Existuje mnoho výjimek z tohoto rámcového pravidla.



## Příklady vyšetřovacích technik v mikrobiologii

Mikroskopie – u parazitologie

Kultivace – v bakteriologii a v mykologii

Průkaz antigenu původce - virologie

PCR – tuberkulóza, chlamydie

Serologie – virová onemocnění

Kožní test – tuberkulóza



### Kontrolní otázka

Je při kultivačním vyšetření důležitý šetrný transport vzorku a proč?



### Otázky k zamyšlení

Jaký test použijeme v prvním týdnu virového onemocnění a jaký v rekonvalescenci?  
Proč je kultivační vyšetření rozšířenější než PCR?



### Shrnutí

#### Druhy diagnostických testů.

Přímý

Mikroskopický  
Kultivační  
Imunologický  
Genetický

Nepřímý

Serologický  
Test na specifickou buněčnou imunitu  
Kožní test  
Quantiferon



### Literatura

Příručka mikrobiologie pro bakaláře 3.LFUK . URL:

<http://old.lf3.cuni.cz/mikrobiologie/bak/uceb/index.html>

## 4. Septický stav jako příklad patologického vztahu mikroorganismus - hostitel



**Časový rozsah:** 2 hodiny

1. hodina - teoretické informace nutné k pochopení patogeneze sepse.
2. hodina – základní vyvolavatelé sepse s přihlédnutím k nosokomiálním kmenům



### Cíle

Pochopit vzájemnou podmíněnost výsledku interakce mikroorganismus – hostitel.



### Klíčová slova

Hemokultura. Horečka. Septický šok. SIRS.



### Definice

Sepse je vážný stav, na jehož rozvoji se podílejí jak spouštěcí mechanismy mikrobiálního původu, tak nespecifická imunitní odpověď pacienta.



### Anotace a základní pojmy

SIRS

Jako syndrom systémové zánětové odpovědi (SIRS) se označuje stav charakterizovaný dvěma či více z následujících kritérií:

teplota nad 38 °C nebo pod 36 °C;  
tep nad 90/min;

dechová frekvence nad 20/min nebo CO<sub>2</sub> pod 32 mmHg;  
leukocyty nad 12 tis./μl nebo pod 4 tis./μl nebo víc jak 10 % nezralých forem.  
Sepseseps je SIRS v důsledku potvrzeného infekčního procesu.

diagnóza – aspoň dvě předchozí kritéria a infekce  
těžká seps – seps spojená s orgánovou dysfunkcí, hypoperfúzí tkání nebo hypotenzí  
septický šok  
těžká seps s hypotenzí, která nereaguje na doplnění objemu  
známky hypoperfúze (laktát, oligurie, alterace mentálního stavu)  
MODS Syndrom multiorgánové dysfunkce  
stav s poruchou funkce orgánů u akutně nemocného pacienta, kdy homeostázu tělo nedokáže  
zajistit bez zevní intervence  
epidemiologie: časté onemocnění, léčí se na JIP a léčba je nákladná



### **Příklady vyšetřovacích technik u seps**

Hemokultura  
Laboratorní stanovení druhu původce  
Stanovení antibiogramu



### **Kontrolní otázka**

Při rychlém rozpadu gramnegativních bakterií po podání antibiotik se z nich může uvolnit látka, která vyvolá příznaky SIRS. O jakou látku se jedná?



### **Otázka k zamyšlení**

Lze předvídat prognózu seps u pacienta podle jeho celkového zdravotního stavu?



### **Shrnutí**

#### **Základní body rozvoje seps**

infekční inzult. Vstup infekce, hrají tu roli faktory pacienta a patogenu  
Časná systémová odpověď záleží na množství a rychlosti průniku cytokinů do oběhu – tím se rozvíjí SIRS  
Rozvoj známek SIRS nám napovídá, že se infekce začíná vymykat lokální kontrole  
Hlavní cytokiny zodpovědné za tento stav – TNF $\alpha$ , IL-1, IL-6 a IFN $\gamma$   
horečka vzniká působením IL-1 na hypothalamus  
Výhody horečky – zpomaluje růst agens, potencuje tvorbu Ig, rychlost makrofágů a tvorbu růstových faktorů pro neutrofile  
Pokročilá systémová odpověď . Je to stádium, kdy už nemocný nemůže kontrolovat zánětlivý proces. Základní roli hraje dysfunkce endotelu účinkem TNF a IL-1 → mikrotromby, hromadění polymorfonukleárů a trombocytů → porucha mikrocirkulace  
porucha endotelu vede posléze k vazodilataci, rozvoji diseminované intravaskulární koagulace, septického šoku s únikem intravazálních tekutin mimo oběh, centralizaci oběhu a orgánové dysfunkci.



### **Literatura**

Votava M, Ondrovčík P. Vybrané kapitoly z klinické mikrobiologie. Skripta MU Brno 1998 nebo novější vydání.



## 5. Alimentární nákazy



**Časový rozsah:** 2 hodiny

1. hodina - teoretické informace nutné k pochopení patologie alimentárních nákaz
2. hodina – základní vyvolavatelé alimentárních nákaz a klinický obraz onemocnění



**Cíle**

Pochopit alimentární nákazy jako široké spektrum nemocí podle vyvolavatele a způsobu šíření



**Klíčová slova**

Průjem, fekálně orální přenos, otrava z potravin, hepatitis



**Definice**

Onemocnění, kdy se jedinec nakazí pozřením kontaminované potravy či tekutiny.



**Anotace a základní pojmy**

Přenos nákazy ingescí, vstupní brána – zažívací trakt

Cesty přenosu - požití infekčního agens v kontaminované vodě, mléce a v jiných potravinách i kontaminovanými rukama

Lokalizace infekce – střevní sliznice nebo jiný cílový orgán

Klinické projevy - nejčastěji: náhlý začátek, převážně s vysokou teplotou, nauseou, zvracením, difúzní bolesti břicha, stolice – nejdříve kašovitá, potom vodnatá even. s příměsí hlenu a čerstvé krve (také „chřipkovité potíže“, lymfadenopatie, ...).

Střevní parazitózy – helmintózy, bacilární úplavice, Kryptosporidióza.

Etiologické agens je vylučováno stolicí popř. močí infikovaných osob či zvířat



**Příklady vyšetřovacích technik u sepse**

Kultivační vyšetření stolice

Laboratorní stanovení druhu původce

Stanovení antibiogramu



**Kontrolní otázka**

Jakým způsobem se provádí laboratorní diagnostika salmonelózy? Kryptosporidiózy? Oxyuriázy?



**Otázka k zamyšlení**

Je vhodné podávat při střevních salmonelózách antibiotika?



**Shrnutí**

**Základní dělení průjmů**

Z klinického, příp. patogenetického hlediska je výhodné rozlišovat průjem vyvolaný enterotoxinem, průjem vyvolaný mikrobiálním napadením povrchu střevní sliznice a konečně průjem při postižení celé střevní stěny.

Enterotoxické průjmy jsou typické krátkou inkubační dobou (typicky 6 až 12 hodin), velkým počtem vodnatých stolic snadno vedoucím k dehydrataci, častou nauseou a zvracením,

nepřítomností leukocytů a erytrocytů ve stolici a nezvýšenou teplotou. Patří sem kromě cestovatel-ského průjmu vyvolaného enterotoxigenními kmeny *E. coli* např. cholera (*Vibrio cholerae*), ente-rotoxikózy způsobené toxiny *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Aeromonas hydrophila*, *A. sobria*, *Plesiomonas shigelloides*, gastroenteritidy vyvolané adenoviry nebo virem Norwalk a neinvazivní parazitózy způsobené např. *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum* nebo *Isospora belli*.

Průjem s postižením povrchových vrstev střevní sliznice je typický pro infekce vyvolané příslušníky rodů *Salmonella*, *Shigella* a *Campylobacter*. Inkubační doba je delší (1-3 dny), zánětlivá reakce vede k přítomnosti leukocytů a erytrocytů ve stolici a ke zvýšené teplotě U pseudomembranózní kolitidy vyvolané *Clostridium difficile* je střevní sliznice postižená vlivem toxinu, nikoli invazí mikroba. K onemocnění dochází zejména u hospitalizovaných nemocných po antibiotické léčbě (hlavně linkosamidy, ale i jinými antibiotiky). *C. difficile* se díky rezistentním sporám v nemocničním prostředí snadno šíří.

Invazivní mikroorganismy jako *Salmonella typhi* nebo *Yersinia enterocolitica* vyvolávají na počátku infekce spíše zácpu než průjem. Po průniku sliznice se šíří lymfatickou cestou do mesenterálních uzlin, jejichž zánět u yersiniózy může imitovat apendicitidu. Tyfová salmonela z uzlin proniká do krve a působí těžkou generalizovanou infekcí, v jejichž pozdních stádiích se žlučí dostává do střeva znovu a vyvolá zvředovatění Peyerových plaků.



### **Literatura**

Votava M, Ondrovčík P. Vybrané kapitoly z klinické mikrobiologie. Skripta MU Brno 1998 nebo novější vydání.