

OBEČNÁ MIKROBIOLOGIE

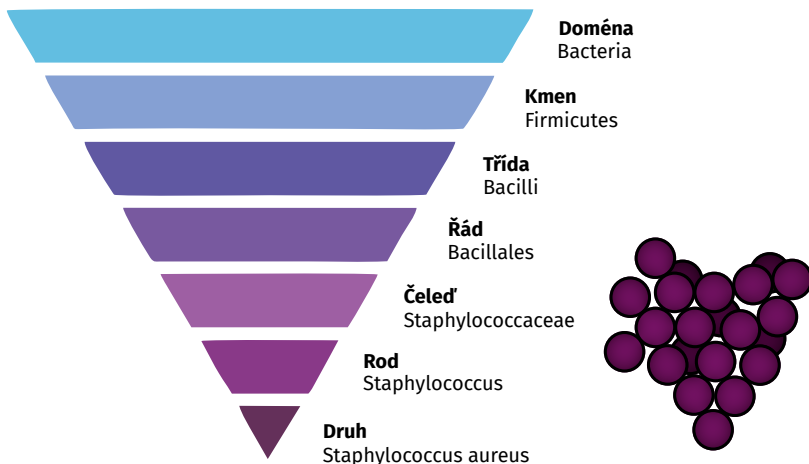
1

1.1 TAXONOMIE A NOMENKLATURA

- Taxonomie je vědní obor, který se zabývá klasifikací, nomenklaturou a identifikací organismů. Při vytváření taxonomických kategorií se tak běžně postupuje ve třech zmíněných bodech:
 - **Klasifikace** se zabývá tříděním organismů do taxonomických skupin (taxonů) podle genotypových či fenotypových vlastností.
 - **Nomenklatura** se zabývá pojmenováním těchto taxonů podle pravidel Kodexu bakteriální nomenklatury.
 - **Identifikace** je konečnou fází, kdy se organismus podle svých genotypových či fenotypových vlastností zařazuje do pojmenovaných taxonů. Pokud jeho vlastnostem žádný známý taxon (obvykle druh) nevyhovuje, může jít o nový taxon.
- V současném taxonomickém systému buněčných organismů je nejvyšší kategorií doména (nebo také nadříše). V třídoménovém systému rozlišujeme domény **Archaea**, **Bacteria** a **Eukarya** (možno psát také Eukaryota). Často se setkáváme se starším pojmenováním **Prokaryota**, které zahrnuje archebakterie (doména Archaea) a bakterie (doména Bacteria). Lékařská mikrobiologie se zabývá především organismy z domén Bacteria a Eukarya (tam patří např. mikromycety, prvoci či helminti).
- Rozlišujeme osm hlavních, hierarchicky seřazených taxonomických kategorií:
 - **Doména** je nejvyšší kategorie, která zahrnuje Archaea, Bacteria a Eukarya.
 - **Říše** (*regnum*) je kategorie dnes využívaná zejména v doméně Eukarya, obsahuje rostliny (*Plantae*), živočichy (*Animalia*), houby (*Fungi*) a Protista. V doméně Bacteria a Archaea se většinou nepoužívá.

Novější rozdělení eukaryot je však více než na morfologii založené na molekulárních fylogenetických analýzách a místo kategorie „Říše“ využívá tzv. superskupiny – Opisthokonta, Amoebozoa, SAR (Stramenophiles, Alveolata, Rhizaria), Archaeplastida, Excavata a nezařazené organismy. V učebnici je z didaktických důvodů pro členění organismů využito staršího dělení.

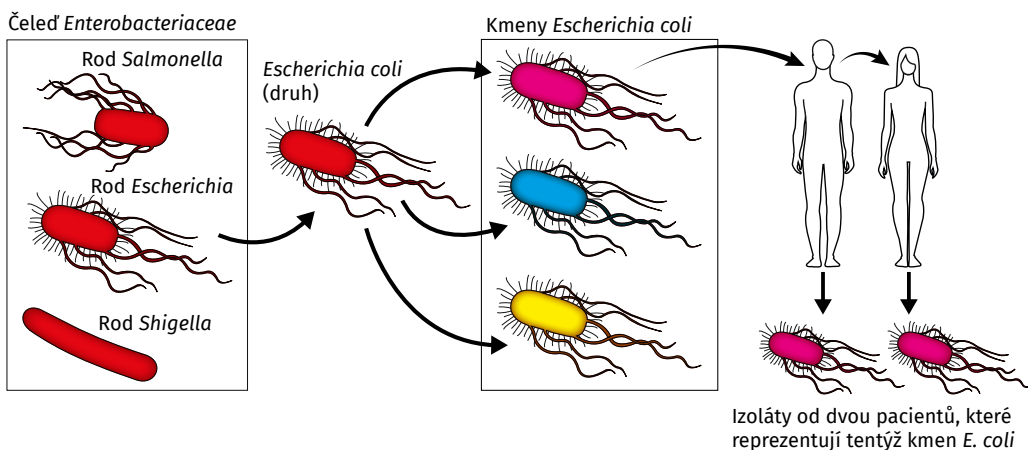
- **Kmen** (*phylum*) je kategorie, dnes využívaná zejména v mikrobiomových studiích. Dvě nejvýznamnější skupiny dnes nejvíce studovaného středního mikrobiomu jsou *Bacteroidetes* a *Firmicutes*. V bakteriologii se však termín „kmen“ používá i v jiném, populačně-genetickém významu (viz níže).
- **Třída** (*classis*).
- **Řád** (*ordo*).
- **Čeď** (*familia*).
- **Rod** (*genus*) zahrnuje obvykle více druhů. Rodové jméno tvoří první část názvu v binomické nomenklatuře.
- **Druh** (*species*) – ačkoliv na jeho pojmovém vymezení dosud nepanuje shoda, bakteriální druh se dnes obvykle definuje jako soubor vzájemně podobných a fylogeneticky příbuzných organismů, které se jasně odlišují od ostatních takových souborů.



OBR. 1 TAXONOMICKÉ KATEGORIE

– Specifická bakteriologická terminologie:

- **Kmen (ang. „strain“)** označuje populaci bakteriálních buněk, která vznikla postupným dělením z jediné buňky (jde o klon, tj. geneticky homogenní populaci vzniklou nepohlavním dělením). Bakteriální kmeny jednoho druhu se mohou lišit například svou odolností vůči antibiotikům, virulencí či schopností epidemického šíření. Mluvíme potom např. o infekci rezistentním kmenem daného druhu (např. kmenem druhu *Acinetobacter baumannii* rezistentním ke karbapenemům) či o epidemickém kmeni.
- Pro úplnost uvádíme i pojem **izolát**, který se liší od pojmu kmen. Izolát označuje populaci buněk vzešlou z jedné bakteriální kolonie, která byla získána vyočkováním klinického materiálu na růstové plotně. Různé izoláty (od více pacientů) mohou někdy reprezentovat tentýž kmen, např. pokud byli pacienti nakaženi ze stejného zdroje infekce.
- Některé druhy jsou seskupeny do větších celků, označovaných jako **komplexy**. Děje se tak v případech, kdy takové druhy nelze od sebe pomocí běžných postupů spolehlivě rozlišit (jsou-li evolučně příbuzné a značně fenotypově podobné). Například komplex *Mycobacterium tuberculosis* nebo komplex *Burkholderia cepacia*.



OBR. 2 SCHÉMA KE ZNÁZORNĚNÍ TAXONOMICKÝCH VZTAHŮ A POJMŮ (VYSVĚTLENÍ V TEXTU)

- **Taxonomie virů** se řídí pravidly Mezinárodního výboru pro taxonomii virů (International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV). Nejnižším taxonem je druh, který je definovaný jako skupina tvořící replikační linii, která se vyskytuje v určité ekologické nise. Taxonomický systém se pravidelně aktualizuje, jak přibývá nově identifikovaných virů molekulárně-genetickými metodami. Dle posledního vydání z roku 2019 obsahuje systém 4 nadříše, 9 říší, 16 kmenů, 36 tříd, 55 řádů, 168 čeledí, 1421 rodů a 6590 druhů.

Binomická nomenklatura a pravidla v jejím zápisu

- Pro biologické pojmenování určitého organismu se používá dvou názvů – **rodového jména a druhového přívlasktu**, proto se tento systém nazývá binomická nomenklatura. Název je v latině, píše se kurzívou, s velkým písmenem na začátku rodového jména a s malým písmenem na začátku druhového jména.
- Např. *Staphylococcus aureus* (rod bakterie nese jméno *Staphylococcus*, druh bakterie se jmenuje *Staphylococcus aureus*), *Escherichia coli* (rod *Escherichia*, druh *Escherichia coli*).
- Rodové jméno se často zkracuje na první písmeno následované tečkou (*S. aureus*, *E. coli*).
- Zkratka „sp.“ a „spp.“ za rodovým označením (např. *Staphylococcus* spp.) označuje rod jako takový a používá se pro případy, kdy hovoříme v širší rovině a nepotřebujeme uvést konkrétní druh nebo druhy. Jedná se o zkratku latinského slova „species“, které má stejný tvar v singuláru i v plurálu. Ve zkratce se zamýšlený plurál vyjadřuje právě pomocí „spp.“. Píše se bez kurzívy.
- Pokud spatříme velké písmeno na začátku druhového přívlasktu psaného bez použití kurzívy, jde o označení sérovaru bakterie (viz níže).

Subtypizace bakterií

- V současnosti často nestačí určit rod a druh patogenní bakterie, někdy je nutné rozlišit její specifické vlastnosti. Tím se taxonomicky dostáváme pod úroveň druhu. Tento přístup se nazývá subtypizace.
- Typicky se rozlišuje:
 - **Sérotyp** neboli **sérovar** – termín je odvozen od toho, že subtypizaci provádíme na základě antigenních vlastností pomocí sérologických metod (více o charakterizaci sérotypu pomocí určení tělového, bičíkového a pouzdrného antigenu viz kapitulu o enterobakteriích, pro které je sérotypizace typická).
 - Můžeme se setkat také s pojmem **séroskopina**, který je používán v charakterizaci a nomenklatuře některých druhů. Např. u pneumokoků se primárně rozlišují sérotypy, ale existují i séroskopiny, do nichž se sérotypy sdružují (jde tedy o nadřazený pojem). U meningokoků se použití pojmu séroskopina striktně dodržuje (séroskopina A, B, C, X, Y, W).
 - **Biotyp** – na základě biochemických vlastností.
 - Pro genotyp a rozdíly na úrovni bázi nukleových kyselin znovu používáme pojmu **kmen** (tj. geneticky se shodující izoláty, více viz genotypizace bakterií v kap. Metody molekulární biologie).

DŮLEŽITOST SPECIFIKACE PATOGENNÍ BAKTERIE UVEDEME NA PŘÍKLADECH:

- *Vibrio cholerae* je G⁻ bakterie, která je původcem cholery. *V. cholerae* má dva **biotypy**: klasický a El tor. Klasický biotyp způsobuje závažnou formu cholery s profuzními průjmy. Biotyp El tor způsobuje častěji slabou formu onemocnění nebo infekce proběhne zcela asymptomaticky.
- Relativně komplikovaná je situace u rodu *Salmonella*. Salmonely mohou způsobovat břišní tyfus nebo „pouhou“ enteritidu. Oba typy onemocnění způsobuje stejný druh *Salmonella enterica*, poddruh (neboli subspecies) *enterica*.
 - O tom, zda se jedná o původce tyfu nebo enteritidy, rozhoduje specifický sérotyp. Celý název se píše takto: *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sérovar Enteritidis (původce enteritidy) anebo *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sérovar Typhi (původce břišního tyfu).
 - Všimněte si způsobu psaní kurzívy tohoto názvu, subsp. (zkratka pro poddruh) a ani sérovar (sérotyp) není napsán kurzívou. Pojmenování sérovaru začíná velkým písmenem a je bez kurzívy.
 - Zjednodušeně a v praxi se pak používá jen rodové jméno a název sérotypu, např. *Salmonella* Typhi.

1.2 OBECNÁ CHARAKTERISTIKA BAKTERIÍ

1.2.1 MORFOLOGIE BAKTERIÍ

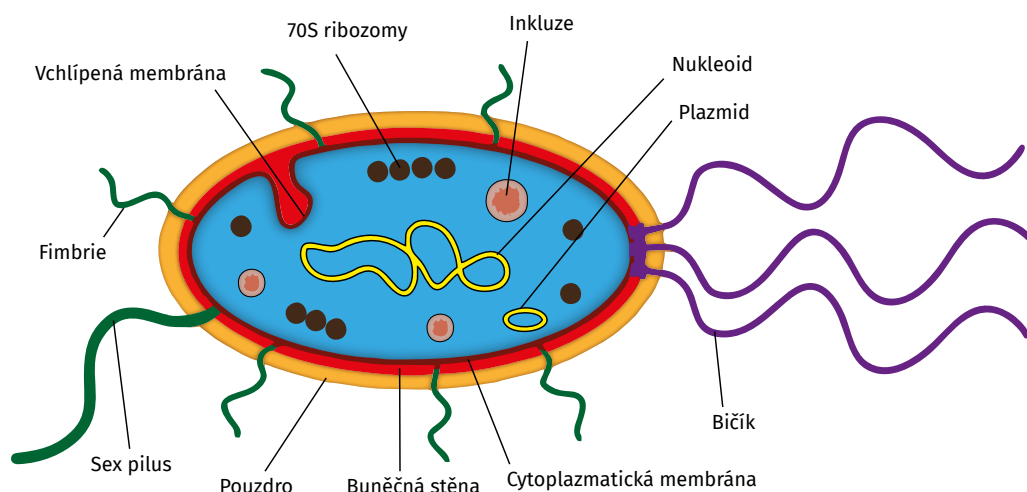
Prokaryota

Prokaryota jsou skupinou jednoduchých jednobuněčných organismů, zahrnující domény *Archaea* a *Bacteria*. Původ slova pochází z řečtiny, odkazuje na „primitivní jádro“. Tedy už v názvu je řečeno, že bakterie nemají buněčné jádro s membránou a místo něj mají bakteriální chromozom (nukleoid). Naproti tomu Eukaryota, v řečtině „pravé jádro“, jsou organismy, jejichž buňky obsahují pravé, membránou ohraničené jádro. Prokaryota se od eukaryot dále liší nepřítomností organel a odlišnou stavbou ribozomů.

Pro úplnost je třeba dodat, že v moderním klasifikačním schématu se termín Prokaryota již nepoužívá. Jedná se vlastně o zastaralý název, protože v moderních klasifikačních schématech se tato jedna skupina rozdělila na dvě domény zvané *Bacteria* a *Archaea*. Do *Archaea* patří mikroorganismy, často asociované se životem v prostředí s extrémními podmínkami, a také některé složky komenzální mikrobioty savců.

Bakteriální buňka

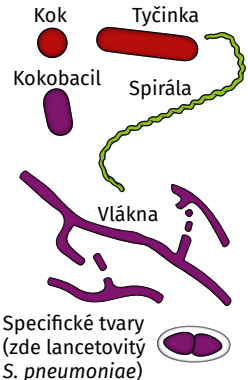
- Bakteriální buňka je ohraničena cytoplazmatickou membránou a buněčnou stěnou. Některé bakterie jsou navíc kryty extracelulárními polysacharidy, které tvoří pouzdro. Dále mohou mít i další povrchové struktury, jako např. bičíky, sekreční systémy a fimbrie. Buňku vyplňuje cytoplazma, ve které jsou uloženy struktury na bázi organel, odlišné od eukaryotických protějšků – ribozomy, bakteriální chromozom (spolu s navázanými proteiny pak označovaný jako nukleoid) a případně plasmidy, vakuoly, inkluze a někdy i spory.
- Velikost patogenní bakteriální buňky se pohybuje kolem 1–3 μm .



OBR. 3 BAKTERIÁLNÍ (PROKARYOTICKÁ) BUŇKA A JEJÍ STRUKTURA

Tvary bakterií

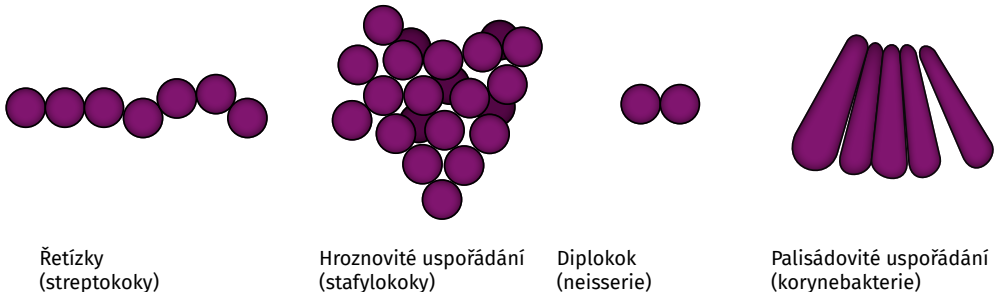
- Bakteriální buňky mají tři základní tvary – **koky, tyčinky a spirály**.
 - **Koky** jsou kulaté buňky. Příkladem jsou stafylokoky nebo streptokoky.
 - **Tyčinky** jsou buňky protáhlého tvaru. Příkladem „jednoduché“ tyčinky jsou enterobakterie.
 - **Kokobacily** jsou přechodem mezi kokem a tyčinkou. Např. *Francisella tularensis*.
 - **Vlákna** popisujeme jako velmi dlouhé tyčinky. Typickými představiteli jsou *Nocardia* a *Actinomyces*.
 - **Spirály** jsou buňky s tvarem dlouhé, štíhlé spirály. Příkladem jsou spirochety jako *Borrelia*, *Treponema* či *Leptospira*.
 - Některé bakterie mají specifický tvar. Např. *Streptococcus pneumoniae* má tvar lancetovitý (tj. tvar plamene nebo špičky kopí).



OBR. 4 TVARY BAKTERIÍ

Uspořádání bakterií

- Buňky některých druhů mají specifické uspořádání. Příklady:
 - Streptokoky vytvářejí řetízky, shluky stafylokoků mají podobu hroznu.
 - *Neisseria* a *S. pneumoniae* zůstávají typicky ve dvojicích – takovýmto útvarům se pak říká diplokoky.
 - Palisádovité uspořádání je charakteristické pro rod *Corynebacterium*.



OBR. 5 USPOŘÁDÁNÍ BAKTERIÁLNÍCH BUNĚK

Intracytoplazmatické struktury

NUKLEOID

- Nukleoid je struktura obsahující DNA, RNA a proteiny, která od svého okolí není ohraničena biologickou membránou. Ve většině případů je v buňce pouze jeden.

RIBOZOMY

- Bakteriální ribozomy se od těch v eukaryotních buňkách liší menší velikostí (velikost 70S; podjednotky pak 30S a 50S) a stavbou. Funkci mají stejnou jako u eukaryot, tedy translační část proteosyntézy.
- Malá podjednotka (30S) obsahuje 16S rRNA. Gen pro 16S rRNA je důležitý v molekulárně genetické diagnostice bakterií (viz Vyšetřovací metody).

INKLUZE A GRANULA

- Inkluze slouží bakteriální buňce jako zásoba živin a energie. Můžeme najít inkluze lipidů, glykogenu apod.

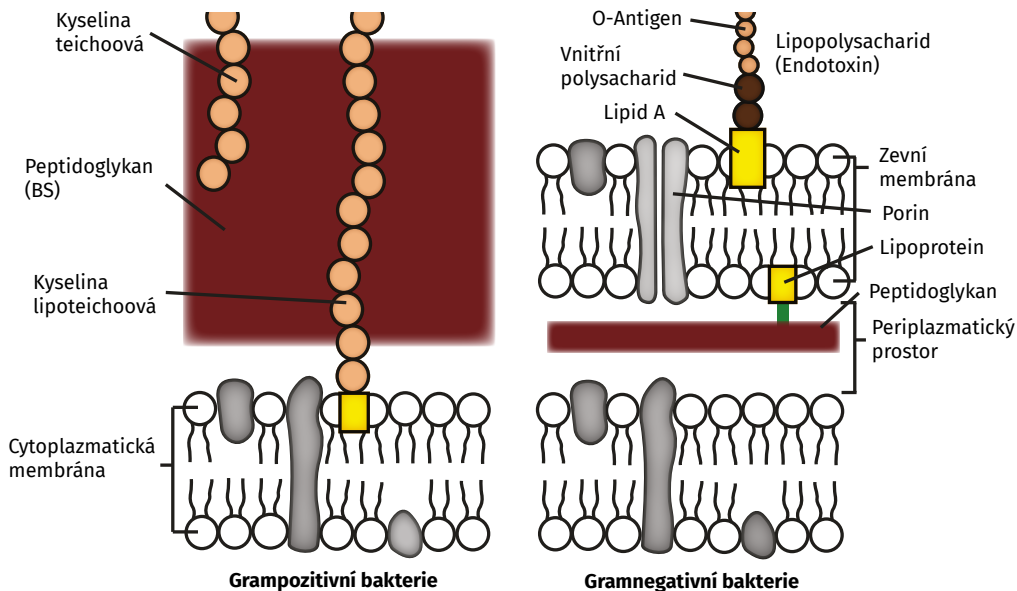
Obaly a povrchové struktury

CYTOPLAZMATICKÁ MEMBRÁNA

- Cytoplazmatická membrána je dvouvrstva fosfolipidů, ve které jsou zabudovány proteiny.
- Odděluje buňku od okolí, avšak bakterie jsou většinou ještě obaleny buněčnou stěnou.
- V membráně jsou zakotveny bíčky i další povrchové útvary.
- Je semipermeabilní, takže některé molekuly mohou membránou volně procházet (zejména voda a lipofilní látky), zbylé molekuly jsou aktivně přenášeny skrz membránu pomocí proteinových transportérů.

BUNĚČNÁ STĚNA

- Hlavní funkcí buněčné stěny je ochrana bakteriální buňky. Jedná se o relativně pevnou a tvrdou strukturu, která drží tvar bakterie. Složení buněčné stěny se značně liší u gramnegativních a grampozitivních bakterií, nicméně u obou lze nalézt vrstvu peptidoglykanu.
 - **Peptidoglykan** (murein) je základní stavební jednotka buněčné stěny, kterou si lze představit jako pevnou mřížku, tvořenou řetězci polysacharidů navzájem spojených krátkými peptidy.
 - Samotný polysacharid se skládá ze střídajících se molekul cukrů N-acetylglukosaminu (NAG) a kyseliny N-acetylmuranové (NAM), tedy (NAG-NAM)-n.
 - Propojení (zesítěvání) sousedících řetězců NAG-NAM nastává procesem transpeptidace, tedy spojením vyčnívajících oligopeptidů z NAM obou polysacharidových řetězců. Enzym zodpovídající za transpeptidaci (transpeptidáza) se také označuje „penicillin binding protein“, neboť je cílem působení penicilinových antibiotik. (Viz Antimikrobiální látky.)
- Grampozitivní bakterie
 - Buněčná stěna G+ bakterií je složena z **tlusté vrstvy peptidoglykanu**, skrz který kolmo probíhají řetězce kyseliny teichoové a lipoteichoové. Řetězce kyseliny lipoteichoové jsou ukotveny v buněčné membráně (Obr. 6). Téměř všechny zbytky kyseliny acetylmuranové jsou spojeny peptidickými můstky.
 - Je tlustší, než je tomu u G- bakterií (cca 20 nm).
 - Při Gramově barvení zůstává krystalová violet v komplexu s jodem vázána v buňce a neprojde buněčnou stěnou při odbarvování. Bakterie jsou proto modrofialové – grampozitivní (viz Vyšetřovací metody).
- Gramnegativní bakterie
 - Buněčná stěna G- bakterií je složitější, ale tenčí (cca 15 nm) než buněčná stěna G+ bakterií. Obsahuje **zevní membránu** (fosfolipidová dvouvrstva) a **tenkou vrstvu peptidoglykanu**, který je uložen v periplazmatickém prostoru – prostoru mezi zevní a buněčnou membránou. V periplazmatickém prostoru se mohou hromadit enzymy, např. ty štěpící antibiotika.
 - Při Gramově barvení se krystalová violet v komplexu s jodem vymyje, bakterie se proto dobarví karbol-fuchsinem a jsou růžové – gramnegativní (viz Vyšetřovací metody).
 - Zevní membrána se skládá z několika specifických struktur – lipopolysacharidů, lipoproteinů a porinů.
 - **Lipopolysacharid** je složen ze dvou složek – lipidové složky (lipid A) a sacharidového řetězce. Sacharidový řetězec vyčnívá ven z buněčné stěny a je složen z vnitřního polysacharidu (část blíže peptidoglykanu) a O-antigenu. O-antigen má antigenní vlastnosti, takže vyvolává tvorbu protilátek proti bakterii, která jej nese. Někdy se lipopolysacharid nazývá **endotoxin**, protože se po rozpadu bakterie uvolňuje z buněčné stěny a spouští mohutnou imunitní reakci (spouštěčem je lipid A). Při masivním rozpadu G- bakterií (např. účinkem antibiotik) hrozí vznik septického endotoxického šoku (viz dále).
 - **Lipoproteiny** spojují peptidoglykan a zevní membránu.
 - **Poriny** slouží jako „brána vstupu“ hydrofilních částic do buňky. Z klinického hlediska je důležité, že jimi **do buňky procházejí např. β-laktamová ATB** (malá svou velikostí), ale jiným ve vstupu zabírají, a ta tedy na G- bakterie nemohou působit (např. vankomycin). Změna počtu či struktury porinů (mutace) může mít za následek vznik rezistence u některých G- druhů, např. právě na β-laktamová ATB.
- Bakterie bez buněčné stěny – existují však i bakterie, které buněčnou stěnu přirozeně nemají. Typickým příkladem je rod *Mycoplasma*.



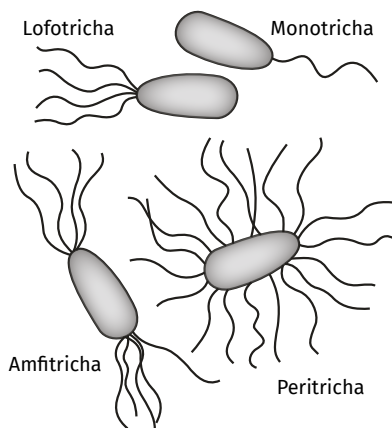
OBR. 6 STAVBA BUNĚČNÉ STĚNY U GRAMPOZITIVNÍCH (G+) A GRAMNEGATIVNÍCH (G-) BAKTERIÍ

EXTRACELULÁRNÍ VRSTVY

- Některé bakterie mají na svém povrchu kromě buněčné stěny ještě další, extracelulární vrstvy, které tvoří pouzdro nebo slizovou vrstvu. Jejich hlavní funkcí jsou **ochrana před fagocytózou a adheze bakterií**. Slizová vrstva, někdy i pouzdro, se může, ale nemusí stát podkladem pro vznik biofilmu – extracelulární matrix, do které jsou jednotlivé bakteriální buňky „zality“, vzájemně spolupracují a vytvářejí tak vyšší stupeň společenství. Biofilm je tak směsí polysacharidů, bílkovin a uvolněné DNA.
- Pouzdro** – polymery tvořící pouzdro pevně lnou k buňce. Rozlišujeme pouzdra:
 - Polysacharidová** – např. *Streptococcus pneumoniae*; **alginátová** (zvláštní druh polysacharidu) – např. *Pseudomonas aeruginosa*;
 - Polypeptidová** – např. *Bacillus anthracis*.
- Slizová vrstva** („slime“) – na rozdíl od pouzdra není pevně přilnuta k buňce.
- Glykokalyx** je termín, který zahrnuje všechny extracelulární struktury bakterie. Spadá pod něj jak pouzdro, tak slizová vrstva (viz Množení a růst bakterií níže).

Bičičky

- Bičičky jsou extracelulární struktury, které bakteriím slouží k pohybu. Typickými zástupci bakterií, které mají bičičky, jsou *Vibrio cholerae* nebo *Escherichia coli* (resp. její pohyblivé varianty). Jsou zakotveny v cytoplazmatické membráně, dlouhé jsou kolem 20 μm .
- Ve stavbě bičičky rozlišujeme tři části: vlákno, kolénko a bazální tělísko.
 - Vlákno** tvoří největší část bičičky. Skládá se z bílkoviny flagelinu.
 - Bazální tělísko** je zabudováno do bakteriální membrány (rotor) a buněčné stěny (stator).
 - Kolénko** je na povrchu bakterie a mění směr bičičky.
- Podle počtu a uspořádání bičičků v bakteriální buňce rozeznáváme monotricha (jeden bičiček), lofotricha (více bičičků na jednom pólu), amfotricha (více bičičků bipolárně) a peritricha (bičičky po celém obvodu buňky). Bakterie bez bičičky označujeme jako atricha.



OBR. 7 USPOŘÁDÁNÍ BIČIČKŮ