



ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE

Fakulta biomedicínského inženýrství
Katedra zdravotnických oborů a ochrany obyvatelstva

**Výskyt sezónních patogenních mikrobů v dopravních prostředcích
městské hromadné dopravy**

**Incidence of Seasons Pathogenic Microbes in Conveyance of Human
Mass Traffic**

Bakalářská práce

Studijní program: Specializace ve zdravotnictví
Studijní obor: Zdravotní laborant

Vedoucí práce: MUDr. Emil Pavlík, CSc.

Veronika Šlemendová

Kladno, květen 2018

Z a d á n í b a k a l á ř s k é p r á c e

Student: **Veronika Šlemendová**
Obor: Zdravotní laborant
Téma: **Výskyt sezónních patogenních mikrobů v dopravních prostředcích městské hromadné dopravy**
Téma anglicky: Incidence of Seasons Pathogenic Microbes in Conveyance of Human Mass Traffic

Zásady pro vypracování:

Předmětem bakalářské práce bude odběr stěrů z prostorů vozidel městské hromadné dopravy a následné mikrobiologické vyšetření na přítomnost patogenních mikrobů s možností přenosu nákazy. V obecné části práce bude probrána flóra mikrobiální běžně se vyskytující ve vzduchu, na kůži a sliznicích člověka. Dále budou probrány patogenní mikroby přenášené kontaktem s ohledem na schopnost těchto agens způsobit sezónní epidemie.

Praktická část se zaměří na odběry vzorků z madel dveří, zadržovacích tyčí a sedadel vozidel MHD. Jejich mikroskopické a kulturační vyšetření. Statisticky bude vyhodnoceno zastoupení jednotlivých patogenů a zvažena rizika přenosu.

Seznam odborné literatury:

- [1] SCHINDLER, Jiří, Mikrobiologie pro studenty zdravotnických oborů, Grada, 2009, 248 s., ISBN 978-80-247-3170-4
- [2] VOTAVA, Miloslav a kol., Lékařská mikrobiologie obecná, Neptun, 2005, 352 s., ISBN 80-86850-00-5
- [3] RŮŽIČKA, Jan, Mikrobiologie pro technology životního prostředí, Vysoké učení technické, Technologická fakulta ve Zlíně, 1999, 124 s., ISBN 80-214-1374-3

Zadání platné do: 13.09.2019

Vedoucí: MUDr. Emil Pavlík, CSc.

.....
vedoucí katedry / pracoviště

.....
děkan

V Kladně dne 25.10.2017

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci s názvem Výskyt sezónních patogenních mikrobů v dopravních prostředcích městské hromadné dopravy vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů, které uvádím v seznamu bibliografických odkazů.

Nemám závažný důvod proti užití tohoto školního díla ve smyslu § 60 zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon).

V Kladně dne 18.05.2018

.....
Veronika Šlemendová

Poděkování

Moje poděkování patří zejména MUDr. Emilu Pavlíkovi, CSc. za odborné vedení mé bakalářské práce. Zejména za jeho odbornou pomoc, rady a připomínky, za ochotu a trpělivost. Ráda bych také poděkovala všem, kteří mi pomáhali a byli mi oporou při vypracování mé bakalářské práce.

Abstrakt

Bakalářská práce je zaměřena na výskyt sezónních patogenních mikrobrů v městské hromadné dopravě hlavního města Prahy v období 7. 2. – 6. 4. 2018.

V teoretické části práce se zaměřuji na bakteriální buňku a na popis přirozeného mikrobiálního osídlení lidského těla. Vysvětluji, jakým způsobem se patogeny přenášejí a jakým způsobem do lidského organismu dostávají, zároveň popisuji, jaké mechanismy používají pro vstup do organismu. V neposlední řadě se zabývám nejběžnějšími patogenními mikroby, kteří se přenášejí vzduchem a kontaktem. A na závěr popisuji kultivační půdy, se kterými jsem pracovala.

V části metodiky se zabývám metodami, které se běžně používají v laboratořích pro určení konkrétních mikroorganismů. Popisuji, jakými metodami jsem došla ke konkrétním výsledkům výzkumu. Je zde vysvětlen jejich princip a postup.

V praktické části práce jsem zhodnotila a popsala nalezené patogeny vyskytující se na tyčích a sedačkách v tramvajích hlavního města Prahy. Zvážila jsem rizika přenosu nákazy. Statisticky jsem vyhodnotila úspěšnost prováděného výzkumu a navrhla doporučení pro snížení výskytu patogenů.

Klíčová slova

Bakterie, Kultivace, Mikroflóra, Mikroorganismus, Nákaza, Patogen, Přenos.

Abstract

Bachelor's thesis is focused on possible incidence of pathogenic microbes in vehicles of the City of Prague Public Transport in February and March 2018.

Theoretical part of the thesis collects information on bacteria and normal microbial residents in human body. I also try to explain how microbial pathogens are transmitted to infect new host and describe mechanisms they use for the host entry. Selected most frequent microbial pathogens with aerogenic and close-contact transmission are described.

Part Methods covers techniques routinely used for laboratory diagnostics in detection of respective microbes. I describe techniques, I had been using in my practice, and explain principles.

In experimental part I reviewed pathogenic microbe findings on holders and seats of trams of the City of Prague Municipal Transport with focus on possible risks of transmission of infection. In contrary to statement of the Transport Board I propose recommendation, how to decrease the risk of pathogen transmission.

Keywords

Bacteria, Cultivation, Microflora, Microorganisms, Infection, Transmission.

Obsah

1	Úvod	9
2	Současný stav	10
2.1	Bakteriální buňka	10
2.1.1	Stavba.....	11
2.2	Normální flóra.....	12
2.2.1	Prospěšné procesy normální flóry	12
2.2.2	Kolonizace povrchu těla a sliznic	13
2.3	Faktory patogenity.....	15
2.3.1	Přenosnost	15
2.3.2	Invazivita	15
2.3.3	Toxicita	17
2.4	Vstup infekčních agens do organismu	18
2.5	Přenos mikrobů.....	20
2.6	Zástupci patogenních mikrobů	21
2.6.1	Patogeny přenášené vzduchem	22
2.6.2	Významný patogen přenášený kontaktem.....	27
2.7	Kultivační půdy	28
2.7.1	Pevné půdy.....	29
2.7.2	Tekuté půdy	30
3	Cíl práce.....	32
4	Metodika.....	33
4.1	Odběr materiálu.....	33
4.2	Kultivace	33

4.3	Gramovo barvení	33
4.4	Světelná mikroskopie	34
4.5	Další průkazy k určení patogenu	35
4.5.1	Burriho barvení	35
4.5.2	Ziehl – Neelsenovo barvení	35
4.5.3	Wirtz – Conklinovo barvení	36
4.5.4	Latexová aglutinace	36
4.5.5	Katalázový test	37
4.5.6	Test na přítomnost vázané koagulázy	37
4.5.7	Průkaz cytochromoxidázy	37
4.5.8	Oxidačně-fermentační test	38
4.5.9	Christie-Atkins-Munch-Petersenův test	38
4.5.10	Enterotest	39
4.5.11	Bacitracinový test	40
4.5.12	Optochinový test	40
4.5.13	Maldi-tof	41
5	Výsledky	42
6	Diskuze	48
7	Závěr	53
8	Seznam použitých zkratk	54
9	Seznam použité literatury	55
10	Seznam použitých obrázků	60
11	Seznamu použitých tabulek	61

1 ÚVOD

Mikrobiologie je lékařský obor, který se zabývá mikroorganismy. Hlavním zájmem mikrobiologie jsou patogenní mikroby, které bezprostředně způsobují onemocnění, zajímá se také o mikroby, které onemocnění způsobují jen při snížené obranyschopnosti hostitele. Dále se zabývá mikroorganismy přenášejícími se na člověka z prostředí a přes zvířata. Přesněji se tedy zabývá bakteriemi, houbami, parazity a také viry. [1]

Mikrobiologie popisuje vlastnosti jednotlivých mikroorganismů, také se zabývá způsoby, jakými můžeme tyto mikroorganismy zlikvidovat. Jedná se buď o fyzikální nebo chemickou likvidaci, kdy hovoříme hlavně o antibiotikách nebo antivirotikách. Také se zabývá přípravou očkovacích látek, které slouží jako prevence před různými onemocněními. [1]

Klinická mikrobiologie je obor, který se zajímá celkově o infekční nákazy. Odvětví mikrobiologie, které se zabývá šířením infekčních nákaz, se nazývá epidemiologie. [1]

Téma výskytu sezónních patogenních mikrobů v dopravních prostředcích městské hromadné dopravy jsem si vybrala, protože mě zajímalo, co se v nich nachází za mikroorganismy. Vybrala jsem si městskou hromadnou dopravu hlavního města Prahy, jelikož je centrem turismu České Republiky a vyskytuje se zde velké množství osob z různých částí světa. Protože stěry byly provedeny za chladného počasí, tedy v období 7. 2. – 6. 4. 2018, předpokladem bylo, že naleznu mikrobiální původce respiračních nákaz jako jsou *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Bordetella pertussis*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Neisserie meningitis*, *Legionella* nebo *Mycoplasma pneumoniae*.

2 SOUČASNÝ STAV

2.1 Bakteriální buňka

Bakterie jsou prokaryotické buňky bez pravého jádra. DNA bakterie tvoří dlouhou kruhovitou molekulu. [6]

Velikost bakterií je od několika desetin mikrometrů po necelý milimetr (0,2 μm -0,75 mm). [1] Patogenní bakterie, které napadají člověka mají 1–3 μm . Nejmenší patogenní bakterie jsou rickettsie, chlamydie a mykoplazmata. [3]

Mikroby dělíme podle tvaru na kulovité a protáhlé. Kulovité můžeme jinak označit jako koky a protáhlé jako tyčinky. [3] „*Krátké tyčinky se označují jako kokobacily nebo kokobakterie, velmi protáhlé tyčinky se označují jako vlákna. Prohnuté tyčinky se jmenují vibria, spirálovitě zahnuté spirochety.*“ [3, str. 36]. Tvary nemusí být pravidelné, mohou být různě zahnuté, tyto tvary nazýváme kyjovitý a vřetenovitý. [1, 3]

Uspořádání bakterií závisí na jejich dělení. Díky tomu na sobě mohou zůstat přichyceny. Koky se dělí v rovině, a proto vznikají řetízky (3-20 koků). Pokud u sebe budeme mít 4 a více koků vznikají streptokoky. Pokud budeme mít dvojici vznikají tzv. diplokoky. Při dělení ve dvou rovinách jsou mikrobi uspořádáni do tetrad (čtveřic). Sarciny vznikají dělením ve třech na sebe kolmých rovinách. Stafylokoky se dělí nepravidelně a jsou uspořádány do hroznů. Tyčinky mohou být uspořádány do krátkých řetízků nebo ve dvojicích jako diplobacily (vzácně). Dělení tyčinek může probíhat i podélně, pak vznikají palisády. [1, 3]

Bakterie dělíme dle Gramova barvení na dvě skupiny. Podstata závisí na základě jejich schopnosti udržet si barvivo za přítomnosti acetonu nebo alkoholu. Mikrobi, kteří si komplex barviv udrží nazýváme grampozitivními, budou tmavě modří. Naopak mikrobi, kteří komplex barviv neudrží budou gramnegativní, budou červení. [3]

2.1.1 Stavba

Cytoplazmatická membrána je složena z dvojité vrstvy fosfolipidů, ve které jsou bílkoviny. Ty jsou důležité pro přenos živin a odvod katabolitů, respirační pochody a syntézu složek cytoplazmatické membrány, buněčné stěny a slizové vrstvy. [1, 3]

Buněčná stěna je vrstva, která chrání celý obsah mikrobiální buňky. [3] Je složena z peptidoglykanu propojeným s oligopeptidy. [1] Složení buněčné stěny se liší dle rozdělení bakterií na grampozitivní a gramnegativní. Gramnegativní bakterie mají na peptidoglykanové vrstvě vnější membránu. Tu tvoří fosfolipidy, bílkoviny a lipopolysacharidy. Je permeabilní. Bílkoviny v membráně nazýváme poriny. [1, 3] Dvnitř buňky se molekuly dostávají přes pór, který tvoří dva sousední poriny, a periplazmový prostor. [1] Grampozitivní bakterie mají stěnu ze silné vrstvy peptidoglykanu, kde jsou uloženy polypeptidové řetězce v několika vrstvách. Zároveň v peptidoglykanové vrstvě je kyselina teichoová. [3]

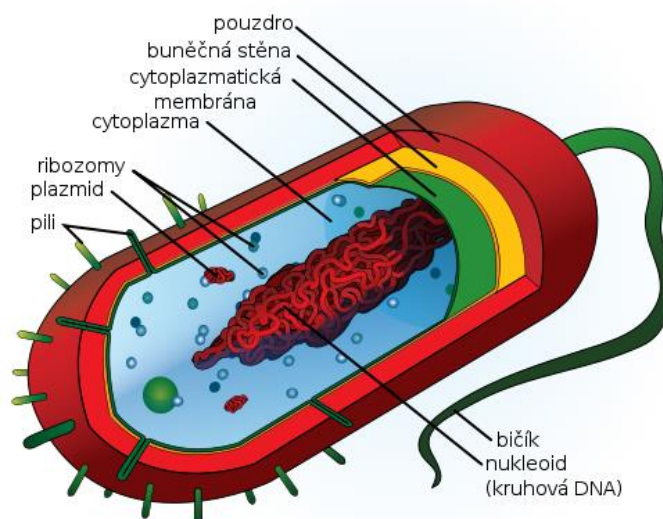
Některé bakterie může pokrývat **pouzdro**, které ji chrání před okolními vlivy a zabraňuje fagocytóze. Je tvořeno polysacharidy (např. *Streptococcus pneumoniae*) nebo polypeptidy (např. *Bacillus anthracis*) nebo slizovou vrstvou (např. *Streptococcus mutans*). Obecně se pro polysacharidové pouzdro používá název glykokalix. [1, 3]

Bičíky mají jen některé bakterie, mají jen jeden bičík nebo jich může být víc ve svazku nebo můžou pokrývat celý povrch mikroba. Slouží k pohybu buňky. [4]

Fimbrie (neboli pili) jsou výběžky, které pokrývají gramnegativní bakterie. Umožňují přilnutí mikrobů na povrch sliznic. [1]

Cytoplazma je vodný roztok vyplňující bakteriální buňku. Jsou v ni umístěné organely. **Nukleoid** je místo, kde je uložena bakteriální kruhová DNA. [3] **Ribozomy** slouží k proteosyntéze. Najdeme je volně v cytoplazmě. [4] Dále v bakteriích můžeme najít vakuoly, inkluze a granula. [3]

Spory se tvoří u některých druhů mikrobů, zejména u rodu *Bacillus* a *Clostridium*. Vznikají reakcí na vysychání a nedostatek živin. U těchto rodů je můžeme nazvat jako endospory, protože se tvoří v buňce. Jsou velmi odolné, a proto odolávají působení okolního prostředí. [3]



Obrázek 1 – Bakteriální buňka [50]

2.2 Normální flóra

Bakterie osidlují povrch těla a sliznice, tyto bakterie pro člověka nejsou nebezpečné, ale naopak velmi prospěšné. Toto usazování bakterií nazýváme jako fyziologická nebo normální flóra. [1] Její složení se liší podle prostředí, kde se jedinec vyskytuje, jeho věku a výživě. [3] Důležitou roli v lidském těle mají bakterie, umí se velmi rychle rozmnožovat čím dokáží rychle mutovat, a proto dochází k přeměnám v jejich populaci. [1]

2.2.1 Prospěšné procesy normální flóry

Jedním z prospěšných procesů je **syntéza vitaminů**. Vitamin B₁₂ je syntetizován v tenkém střevě v ileu, je důležitý pro syntézu DNA, krvetvorbu, buněčné dělení a růst a pro nervovou tkáň. Vitamin K je významný pro srážlivost krve, je produkován bakteriemi, hlavně *Escherichia coli* (dále jen *E. coli*), v tlustém střevě. [1, 2]

Fyziologická flóra **zabraňuje kolonizaci patogenů**, jelikož se usazuje na kůži, trávicím traktu a sliznicích, na sliznicích tvoří biofilm. Biofilm je seskupení mikrobiálních buněk, které jsou zachyceny k podložce, nebo okolním buňkám v mezibuněčné hmotě, kterou tyto buňky samy vytvářejí. [1]

Kolonizující bakterie na sliznicích mohou reagovat na ostatní mikroby bakteriociny, což způsobuje **inhibici nebo letalitu ostatních bakterií**. [1]

Normální flóra ve střevě má vliv na proliferaci lymfatické tkáně, čímž umí **stimulovat imunitní systém**. Např. po ukončení kojení kolonizuje trávicí trakt *E. coli* a další enterobakterie, které následně podněcují vývoj nespecifických protilátek. [1]

2.2.2 Kolonizace povrchu těla a sliznic

Na povrchu těla a sliznic nalezneme přes 100 druhů mikrobů. [1] Na některých místech převažují různé druhy bakterií. [3]

Nejlepší ochranou vůči bakteriím je **kůže**. Pouze larvy některých parazitů do ní mohou pronikat. Pro bakterie je povrch kůže nevhodný, protože se vysušuje a odlupuje. Na povrchu kůže nalezneme převážně grampozitivní bakterie, jelikož jsou odolné vůči vysychání. [3] Nejčastěji se na kůži vyskytuje *Staphylococcus epidermidis*, který pokožku chrání před patogenním *Staphylococcus aureus*. Nejčastěji se vyskytuje ve zpocených oblastech jako je podpaží, dále ho nalezneme na zádech a nosních dírkách. [5] V okolí nosních dírek se vyskytuje i *Staphylococcus aureus*. [3] Na kůži také nalezneme nepatogenní corynebakteria. [1]

Oční spojivka je chráněna mrkáním a slzami, které obsahují lysozymy, laktoferin a sekreční protilátky IgA. Vyskytují se na ní koagulasa negativní stafylokoky a difteroidy. [3]

Streptococcus salivarius se velmi často vyskytuje na sliznici tváře v **dutině ústní a horních cestách dýchacích**. [1] V ústní dutině zabraňují hromadění bakterií sliny

obsahující lysozym, který je antibakteriální. [3] Na zubní sklovině nacházíme *Streptococcus mutans*, který zapříčiňuje zubní kazy. [1] „Dále jsou zde nepatogenní *neisserie*, *korynebakteria*, *Staphylococcus epidermidis*, a jiné stafylokoky, anaerobní nepatogenní spirochety, laktobacily a kandidy.“ [1, str. 114] U některých osob můžeme pozorovat neopouzdrěného *Streptococcus pneumoniae* v krku, v hltanu *Haemophilus influenzae*. Pokud je kmen neopouzdrěný, není pro člověka nebezpečný. [1]

Kyselé prostředí a pepsin vytváří v **žaludku** účinnou bariéru. Při nadměrném pocení ztrácíme chloridové ionty, které jsou potřeba k udržení bariéry, a proto může být porušena. Z tohoto důvodu můžeme v žaludku najít mikroorganismy odolné vůči kyselinám jako jsou kandidy, enterokoky a laktobacily. [3] U některých osob můžeme běžně najít *Helicobacteria pylori*, který si své okolí přizpůsobí. [6]

Část **tenkého střeva** zvaném dvanáctník obsahuje trypsin, mění se pH a žlučové soli, které jsou pro mikroby jedovaté. Pro enterobakterie a enterokoky jsou žlučové soli neškodné, protože jsou součástí normální flóry. Střevní sliznice je také chráněna odlupující se epitelovou vrstvou. Tenké střevo je díky těmto schopnostem dobře chráněno před mikroby. [3]

Tlusté střevo na rozdíl od tenkého střeva má hojně osídlení bakteriemi. Vyskytují se zde anaerobní tyčky rodu *Bifidobacterium* a *Eubacterium*. Dále se zde nachází *E. coli* a enterokoky, v malém množství enterobakterie a různé mikroby jako např. *Candida albicans*. U dětí, které jsou kojené mateřským mlékem se jako první objevují zástupci rodu *Bifidobacterium*. Oproti tomu u dětí na umělém mléce se vyskytují jako první laktobacily. Při průjmu se uvolňují místa na sliznici a mohou se zde uchytit patogenní mikroby např. kvasinky. [3]

Močová trubice je kolonizována jen v přední části. Její sliznice je osídlena *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Corynebacteria*, výjimečně i *Proteus* a *E. coli*. [4] Ochranu před vznikem infekce zajišťuje proud moče, který bakterie

odplavuje. Jelikož je u žen močová trubice kratší a blíže k řitnímu otvoru, dochází u nich k častějším zánětům močového měchýře než u mužů. [3]

Vaginální sliznice je řízena hormony. Do puberty je flóra osídlena stejně jako zevní genitál, tedy *Staphylococcus epidermidis*, *Sarcina*, *Enterococcus faecalis*. V období puberty se osídlení mění převážně na *Lactobacillus acidophilus*. [3, 4]

2.3 Faktory patogenity

Patogenita je pojem, který vyjadřuje schopnost mikroba způsobit chorobu. Její míru vyjadřuje virulence. [1] Patogenita má tři důležité složky – přenosnost, invazivitu a toxicitu. [3]

2.3.1 Přenosnost

Pro úspěšný **přenos** mikrobů na nového hostitele je potřeba několik faktorů, jako je počet vyloučených mikrobů z infikované osoby, počet infekčních mikrobů potřebných pro nákazu nového hostitele, schopnost přežít ve vnějším prostředí a také závisí na chování hostitele. Počet mikrobů potřebných pro způsobení onemocnění u nového hostitele se liší, závisí totiž na jeho druhu a citlivosti hostitele v případě, že je hostitel specificky imunní. Například pro přenos patogenního mikroorganismu způsobujícího tuberkulózu stačí zhruba 10 buněk. Přenos patogenů na dalšího hostitele usnadňuje i kašláním, ačkoliv se jedná o obranný mechanismus. [3]

2.3.2 Invazivita

Invazivita je další složkou patogenity. Důležitým úkolem mikroorganismu je přichycení se na povrch hostitele a pomnožit se, průnik povrchem do vnitřního prostředí hostitele a pomnožit se a překonat ochranný mechanismus. [3]

Podskupinou invazivity je **přilnavost** bakterií k epitelovým buňkám hostitele, ideálně na sliznicích, a to v dutině ústní, tenkém a tlustém střevě a močových cestách nebo ve vagíně. Některé mikroorganismy si vyvinuli tuto schopnost, jinak by byli pomocí ochranného mechanismu těla odplaveni. Bakterie s touto schopností na sobě mají zvláštní struktury nebo speciální bílkoviny, tj. adheziny. Specificky se váží na receptory buněk. Adheziny dělíme na dvě skupiny – **fimbrie** a **nefimbriální adheziny**. **Fimbrie** mají tyčkovitý tvar. Vážou se na povrchy s obsahem uhlovodanů, buněčných glykolipidů a glykoproteinů. Mikrob se přichytává koncem fimbrie k receptorům hostitelových buněk a tvoří tak s nimi pevnou vazbu. [3] Bakterie využívající fimbrie je např. *Escherichia coli*, která se přichytává na sliznice v močových cestách a způsobuje jejich infekci. [1] **Nefimbriální adheziny** se vážou na povrchy, které na sobě mají speciální bílkoviny. Nejčastěji je najdeme u grampozitivních bakterií, jako jsou např. Mycoplasmata nebo Yersinie. Díky adhezenci bakterií se na površích tvoří tzv. biofilm. Pokud je biofilm neporušený, můžeme ho zařadit do ochranného mechanismu nespecifické imunity, protože skrz něj patogenní mikroorganismy těžko proniknou do hostitelského organismu. [3]

Další podskupinou invazivity je **průnik do vnitřního prostředí** hostitele. Odolnější bakterie jsou schopné proniknout dovnitř. Bakterie často využívají pohlcení makrofágem, tedy překonají fagocytózu a nitrobuněčný rozklad. Vzácně bakterie využívají enzymy k průniku buňky, jinak to nazýváme jako **aktivní průnik**. [3] Např. *Clostridium perfringens* využívá enzym lecithinazu, která vyvolává nekrotizující zánět sliznice tenkého střeva. [1, 3] Nicméně často není znám způsob, jakým se mikrob do hostitele dostane. [3]

Schopnost bakterie **pomnožit se v hostitelově buňce** je další podskupinou invazivity. Bakterie má možnost se množit v plazmě nebo tkáňovém moku anebo přímo uvnitř buňky. Pokud se bakterie bude množit v plazmě bude jí vadit přítomnost protilátek působících proti nim, jako jsou např. lysozymy nebo protilátky, a to zejména nedostatek volného železa. Někdy bakterie vyžadují

specifické látky, které jsou pouze v některých částech těla. Například streptokoci v ústech využívají sacharózu, kterou přijímáme v potravě. [3]

Bakterie pronikají do vnitřního prostředí hostitele, některé se však množí pouze na povrchu. Říme tomu **schopnost šířit se organismem**. Inkubační doba je čas mezi počátkem nákazy a jejím prvním projevem, to trvá maximálně několik dnů. Bakterie se šíří různými cestami díky různým faktorům virulence. Šíří se z infikovaného místa do okolí, tělními tekutinami jako je krev a lymfa nebo po nervech. Bakterie šířící se **lymfou** poznáme podle oteklých mízních uzlin a zarudnutí v místě infekce, např. při poranění kůže a infikováním *Streptococcus pyogenes*. Nicméně většina šířících se infekcí je v uzlinách zastavena, ale není tomu tak např. při nákaze *Staphylococcus aureus*, kdy se uzlina změní na váček s hnisem. Pokud makrofágy nezničí patogenní bakterie, tak se dostanou do krve. Do **krve** se většinou mikrobi dostávají z postižených míst, jako jsou právě zmíněné uzliny. Infekce se projevuje hlavně horečkami, ale změnami v krevním obrazu (u leukocytů). U přímého šíření **z postižených tkání** bakterie často využívají enzymy, díky kterým se dostanou určitá místa, např. *Streptococcus pyogenes* využívá enzym hyalurodinasu. Je tomu tak i v případě pneumokoků, nicméně u nich není do dnes znám přesný způsob, jakým se dostanou z infikovaného ucha až do mozkových blan. Přes nervy se přenáší hlavně viry. [3]

V neposlední řadě je třeba, aby se mikrob **vypořádal s obrannými mechanismy hostitele**. Nejčastější obranou bakterie proti obranným mechanismům, jako je spuštění komplementu a fagocytóza je tvorba pouzdra, je tomu tak u pneumokoků, stafylokoků nebo meningokoků. [3]

2.3.3 Toxicita

Toxicita je další důležitá součást patogenity a umožňuje mikrobovi poškodit hostitele. [3]

Hostitelské buňky jsou často poškozovány **přímým účinkem patogenního mikroba**. A to zejména buněčnou smrtí a její metabolickou poruchou způsobenou bakteriálními toxiny, které poškozují buněčnou membránu, nebo mechanickými příčinami. [3]

Bakteriální toxiny dělíme na exotoxiny a endotoxiny. [3] **Exotoxiny** můžeme rozdělit na **neurotoxiny**, které působí na centrální nervovou soustavu, např. tetanospasmin, který produkuje *Clostridium tetanii* a způsobuje svalové křeče. Dále na **hemolyziny**, který způsobuje rozpad erytrocytů, např. alfa-toxin produkovaný *Staphylococcus aureus*. A na **enterotoxiny** způsobující poškození sliznice střev průjmy, např. termolabilním toxinem produkovaným *E. coli*. [1, 3] **Endotoxin** je lipopolysacharid, který je v buněčné membráně gramnegativních bakterií, jeho toxicita se projeví až po rozpadu bakterie. Mikrob produkující endotoxiny způsobuje hostiteli při nízké koncentraci teploty, ale pokud je jeho koncentrace vysoká může způsobit smrtelné selhání krevního oběhu. [3]

2.4 Vstup infekčních agens do organismu

Aby se mikrob přichytil na receptor svého hostitele, musí na svém povrchu nést specifickou molekulu. Průnik kůží nebývá snadný díky odlupujícím se epitelům. Pokud mikroorganismy vnikají do hostitele přes trakty, kde jsou vyměňovány dýchací plyny, vylučovány tělní tekutiny a přijímány živiny, musí se vypořádat s obrannými mechanismy hostitelských buněk. Existují typy receptorů, které jsou pouze na určitých buňkách a způsobují vysokou citlivost vůči některým infekcím. [6]

Pro mikroby je důležité, aby se nákaza šířila dál. Musí se proto dostat z infikovaného organismu ven, a to tělními tekutinami nebo výkaly nebo krví. [6]

Na povrchu **kůže** jsou mastné kyseliny (pH zhruba 5,5), substance z mazových žláz a různé peptidy, které jako první zasahují proti mikrobům, kteří nejsou součástí

normální flóry. I přes tyto složky se dostanou do kůže skrz vlasové váčky nebo mazové žlázy. Pokud je kůže porušena, např. oděrkami, popáleninami nebo jinými poraněními, může dojít k průniku infekce např. stafylokoků, leptospir, atd. [6]

Oční spojivka je udržována v čistotě díky neustálému omývání slzami a mrkáním. Aby se na ni mikroorganismy přichytily, musejí mít specifický mechanismus. Nákazu si můžeme způsobit sami znečištěnými ručníky anebo prsty, např. chlamydie. [6]

Na **dýchací systém** působí denně až 10 000 mikrobů. Mikroorganismy, které vdechneme jsou zachyceny v hlenu a následně přesunuty do hrdla a spolknuty. Aby mikroorganismy pronikly do respiračního systému musejí mít speciální mechanismy (adheziny), které jim to umožní. Adheziny se navážou na receptory hostitelských buněk např. *Mycoplasma pneumoniae* se na hostitelskou buňku (receptor je neuraminová kyselina) přichytí přes koncové prodloužení membrány. [6]

Bakterie dále musí překonat mechanismus, který zabraňuje jejich usazování je pohyb řasinek. Aby tento mechanismus překonaly, musí se pevně navázat na respirační epitel a produkovat látky, které ho ovlivní. Například *Haemophilus influenzae*, *Bordetella pertussis*, atd. Bakterie, které se dostanou do plicních sklípků přes tuto bariéru se musejí vypořádat s alveolárními makrofágy. Ti zahubí velké množství bacilů, nicméně existují bakterie, které se naučily přežít i přes fagocytózu. *Mycobacterium tuberculosis* umí přežít vevnitř fagocytu. [6]

Trávicí trakt nemá žádný speciální obranný mechanismus, nanejvýš může dojít k průjmům nebo zvracení. Aby se bakterie začaly ve střevě množit, musejí se uchytit ke střevnímu epitelu, jinak budou trávicími procesy vyloučeny. Mikroorganismy, které překonají účinky enzymů, kyselin, hlenu a žluči, mohou infikovat hostitele. Pokud mikroorganismus pronikne střevním epitelem, jeho patogenita je závislá na množení a dalšího šíření, poškození buněk, tvorbě toxinů a imunitním systému.

Vibrio cholerae tvoří enzym mucinázu, která mu pomáhá v průniku skrz hlen. Tlusté střevo může osídlit *Shigella*, tenké střevo převážně *Salmonella*, obě jsou odolné vůči působení žluči. Žaludeční kyseliny je schopný překonat *Helicobacter pylori*, který produkuje ureázu, ureáza reaguje s močovinou a tvoří čpavek. [6]

Další vstupní cestou je **urogenitální systém**. Mikrobi, kteří se dostanou až do močových cest přes močovou trubici se musejí přichytit k epitelovým buňkám. Obranný mechanismus močové trubice je zajištěný pravidelným proplachem močí. V ženském genitálu nejsou žádné specifické čistící mechanismy. [6]

Orofarynx je chráněn před infekcí slinami. Tento ochranný systém je posílen pohybem jazyka, rtů, tváří a látkami jako jsou sekreční protilátky IgA, lysozym, leukocyty ve sliznicích a fyziologická flóra. Aby se patogenní mikrobi přichytili na povrch sliznice, musejí mít specifický mechanismus jako je kyselina lipoteichoová, která se váže na epitel např. *Streptococcus pyogenes* na epitel hltanu. [6]

2.5 Přenos mikrobů

Přenos nákazy je ovlivněn počtem vyloučených mikrobů, jejich stabilitou a počtem potřebných pro nákazu dalšího hostitele. Nejvýhodnější přenos je z člověka na člověka dýchacím systémem (aerosolem a slinami), orofekální nebo pohlavní cestou. Vyloučení mikrobi se musí vypořádat s vlivy vnějšího okolí, většina z nich po opuštění těla hostitele nepřežije. Mikrobi musí překonat vyšší teploty, vysoušení a účinek chemikálií. Někteří si vytvořili specifické stádium, které jim pomáhá tyto vlivy překonat např. spory Klostridií. [6]

Přes **dýchací systém** se infekce nejčastěji přenáší v přeplněných prostorech jako jsou školky a úřady, a to zejména kašláním a kýčáním. Těmto mikroorganismům se daří hlavně v zimním období, protože vzduch v těchto prostorech je málo větraný a obsahuje procento vody a díky tomu déle přežít (např. Streptokoky). Dalším problémem je klimatizace (např. v dopravních prostředcích), která produkuje suchý

vzduch a ten vysušuje sliznice respiračního epitelu. Při kašláním a kýchním se vylučují kapénky, které mohou obsahovat viry a mikrobi. Malé množství mikrobu v kapénkách se uvolní i během mluvení. Vyloučené mikroorganismy se mohou usadit na okolní objekty nebo mohou proniknout do dýchacích cest jiného hostitele. [6]

Infekce z **gastrointestinálního traktu** se šíří kvůli snížené hygieně a zdraví obyvatelstva. Přenos probíhá přes orofekální cestu – člověk osahá předmět na němž jsou přichycení mikrobi a přes nemyté předměty nebo ruce zpět do úst. [6]

Močí se infekce do **močových cest** dále nešíří, může ale infikovat okolí. Infekce přenosné genitálním traktem probíhají přes sliznice, pokud dojde k výtoku a přenosu na epitelu povrchu je vyšší pravděpodobnost nákazy. V našem případě je tento způsob nákazy minimální. [6]

Infekce přenosné z **orofaryngu** jsou šířené slinami. Mikrobi, jako bacily TBC a streptokoky se do nich dostanou z dolních a horních dýchacích cest. Často se takto nákaza přenáší u malých dětí, dávají si ruce do úst, pak sahají na různé předměty a opět si sahají do úst. [6]

Kůže se odlupuje v závislosti na denních činnostech. Šíření probíhá přímým kontaktem nebo infikovanými prsty než odlupováním šupinek kůže. Takto se přenášejí zejména stafylokoky. [6]

2.6 Zástupci patogenních mikrobu

Patogenní mikrob je mikroorganismus, který způsobuje infekci hostitelských buněk. Buď onemocnění vyvolává přímo nebo působením produkovaných toxinů. Nalézáme zde také mikrobi, kteří jsou patogenní jen v případě, že se dostanou v organismu na jiné místo, než se přirozeně vyskytují, anebo dojde k oslabení imunity. [40]

2.6.1 Patogeny přenášené vzduchem

Vzduch je ideální transportní prostředek pro přenos mikroorganismů. Mikroorganismy se váží na prachové částičky. V uzavřených prostorech se mikrobiální osídlení ustálí, pokud je tedy přítomný patogen může způsobit hromadné onemocnění z něhož často vznikají epidemie. [37]

Mycobacterium tuberculosis jsou nepohyblivé tyčky odolné vůči kyselinám. Kvůli tomu je nemůžeme barvit Gramovou metodou, musíme je barvit metodou Ziehl-Neelsen. [1, 32] Tyto bakterie jsou odolné vůči vyschnutí, což jim umožňuje dlouhodobé přežití ve vykašlaném hlenu. Bohužel běžné čisticí prostředky tento patogen nezničí, pro jeho úspěšné zlikvidování je třeba ultrafialového záření nebo autoklávování. Tato tyčinka využívá schopnost přežití uvnitř aktivovaného monocyty, kde se množí. Díky této schopnosti se bakterie přepraví v makrofágu do lymfatických uzlin a následně odtud do krve a cílových orgánů. *M. tuberculosis* se do lymfatických uzlin dostane přes plicní sklípky, vzácně skrz kůži nebo trávicí trakt. [32] *M. tuberculosis* způsobuje onemocnění zvané tuberkulóza, primární infekce je důsledkem vdechování infekčních kapének, které se vyskytují v plicních sklípcích kde se rozmnožují, což vede ke vzniku primární léze v plicích. Infekce se projeví v závislosti na imunitní odpovědi hostitele. Infekce se buď zastaví nebo postupuje a rozšiřuje se. Onemocnění se může objevit v pozdějším věku, kdy bude snížena imunitní reakce. Plicní tuberkulóza je nejčastějším projevem. Tuberkulóza může postihovat i jiné orgány-pleurální dutinu, perikard, lymfatické uzliny, gastrointestinální trakt, dutinu břišní, urogenitální trakt, kůži, kosti, klouby a centrální nervovou soustavu. [33] TBC se léčí několik měsíců antituberkulotiky. Dříve se jako prevence používala očkovací vakcína BCG, která se vyráběla z oslabeného mikroba *Mycobacterium bovis*. [32] K 1. listopadu 2010 bylo zrušeno povinné celoplošné očkování novorozenců. [35]

Corynebacterium diphtherie je grampozitivní, fakultativně anaerobní tyčka (v mikroskopu je můžeme vidět ve dvojicích) způsobující záškrt. [32] Mikroorganismus se šíří sekrety z nosohltanu, měsíce může přežít v prachu a kontaminovaných suchých hoblinách. [33] *C. diphtherie* infikuje hostitele skrz cesty dýchací. Nákaza se projeví po dvou až šesti dnech, bakterie se pomnoží ve stěně hltanu. Bolesti v krku a zvýšená teplota jsou častými příznaky nákazy. [32] Nejčastěji se vyskytuje u malých dětí, zejména ve věku 3 až 6 měsíců, kdy dochází k úbytku mateřských protilátek. *C. diphtherie* uplatňuje své účinky produkcí silného exotoxinu, který inhibuje syntézu bílkovin v buňkách savců. Inhibice syntézy bílkovin pravděpodobně odpovídá nekrotickým a neurotoickým účinkům toxinů, účinky se projevují zejména na srdci, nervech a ledvinách. Léčba se provádí po dobu 14 dní antibiotiky, ideálně penicilinem, ale možná alternativa je např. erytromycinem. [33] Jako prevence je proti záškrtu zavedeno povinné očkování dětí starších devíti týdnů. Následně je důležité přeočkování v šesti a jedenácti letech věku dítěte. [36]

Bordetella pertussis jsou gramnegativní aerobní kokobacily způsobující černý kašel. [32] Organismus se šíří kapénkovou infekcí a je vysoce infekční. [33] Inkubační doba je 7-10 dní, pak se objeví první příznaky jako příznaky běžného nachlazení (tj. první stádium onemocnění). Ve druhém stádiu, které přichází po týdnu až dvou, trpí nakažený záchvaty kašle s produkcí velkého množství hlenu. Po dalších dvou až čtyřech týdnech nastává poslední stádium, kdy se nakaženému zmírňují projevy onemocnění. Dalo by se nazvat jako stádium rekonvalescence, ale mohou nastat komplikace, kdy se postižený nakazí další infekcí. [32] *B. pertussis* se nejvíc vyskytuje u kojenců, ale také se vyskytuje u dospívajících a dospělých osob. Morbidita a mortalita jsou vyšší u žen než u mužů, a u dětí mladších šesti měsíců. [33] *B. pertussis* se přichytávají na řasinkový epitel cest dýchacích, blokují tím jejich funkci a následně poškozují sliznici. Černý kašel léčíme antibiotiky, ideálně erytromycinem. Nicméně pokud jsou antibiotika podána v pozdějším stádiu onemocnění, jejich účinek ovlivní průběh onemocnění minimálně. Jako prevence je zavedeno povinné očkování dětí

ve věku devíti až dvanácti týdnů. [32] Následné přeočkování v šesti a jedenácti letech. [36]

Haemophilus influenzae je malý, náročný gramnegativní coccobacillus patřící do rodu *Pasteurellaceae*. Velmi dobře se přizpůsobil lidem a nachází se v nosohltanu u 75 % zdravých dětí a dospělých. *H. influenzae* býval běžnou příčinou meningitidy v institucích zabývajících se péčí o děti. Roční výskyt invazivního onemocnění dramaticky klesl po zavedení konjugované vakcíny proti *H. influenzae* v roce 1993, ale v roce 1999 opět začal růst. V roce 2003 byla zavedena očkovací kampaň pro děti ve věku od 6 měsíců do 4 let. [33] Ve většině případů se *H. influenzae* přenáší kapénkami, může se ale také přenést kontaktem. K rozvinutí onemocnění u nakaženého nedochází vždy, k rozvoji dopomáhá narušená sliznice např. jinou virovou infekcí. *Haemophilus influenzae* osidluje cesty dýchací a vyvolává zde lehká onemocnění až onemocnění velmi těžká jako je pneumonie. Pokud pronikne až do krve může vyvolat meningitidu. Onemocnění se velmi rychle projeví vysokými horečkami, bolestí krku a nesnadným dýcháním. [32] Při léčbě jako první nasazujeme antibiotika, která se jmenují cefalosporiny. Jsou baktericidní, pronikají do mozkomíšního moku a jsou klinicky účinné. [33] Jako prevence proti onemocnění vyvolané tímto původcem je zavedeno povinné očkování dětí starších devíti týdnů. Následně je důležité přeočkování v šesti a jedenácti letech věku dítěte. [36]

Streptococcus pneumoniae je gramnegativní kok, který se vyskytuje buď samostatně nebo ve dvojicích anebo v řetězcích. [32] Nákaza *Streptococcus pneumoniae* je označována jako nejčastější příčina zánětu plic. *S. pneumoniae* je důležitým bakteriálním patogenem u lidí a způsobuje meningitidy, zánětlivá onemocnění vedlejších dutin, endokarditidu, septickou artritidu a řadu dalších infekcí. [33] Pneumokoci pro průnik do plicní tkáně, krevního oběhu a mozkových plen dostávají pomocí invazinů. [32] Pneumokokové se mohou vyskytovat v nasopharyngu i u 10 % zdravých dospělých osob a u 20-40 % zdravých dětí. [32, 33] Pokud je snížena obranyschopnost dýchacích cest, např. po prodělané virovém

onemocnění, má pneumokok velmi dobrou šanci dostat se do plicních sklípků a způsobit tak pneumonii. V plicích se shromažďuje tekutina, ve které se pneumokoci množí. Následně se do plicních sklípků dostávají červené a bílé krvinky, plicní sklípky se zpevní, a proto nebudou nadále funkční. Pokud se pneumokok dostane z plic do pleurální dutiny vytváří zánětlivá ložiska a způsobuje bakteriémii. Bohužel v 25 % případů při bakteriémii pneumokok způsobí smrt nakaženého jedince, a to zejména u dětí v kojeneckém věku a starých lidí. Existuje pře 90 druhů pneumokoků, zhruba 20 z nich způsobuje většinu případů pneumokokových nákaz. Léčíme ji penicilinem. [32] Pro prevenci bylo zavedeno dobrovolné očkování dětí i osob starších 65 let. [33]

Streptococcus pyogenes je gramnegativní. [32] Je beta-hemolytický. Je to jeden z nejvíc patogenních druhů z tohoto rodu. Je odolný vůči vyschnutí. Streptococcus pyogenes způsobuje zánětlivá onemocnění hltanu a kůže, nicméně může způsobit i těžká onemocnění. Tvoří dvojce nebo řetízky. Nejběžnější nákaza způsobená tímto streptokokem se nazývá angína, což je akutní zánět krčních mandlí. Angína se projevuje otokou sliznicí mandlí a hltanu s červeným zabarvením, pokud se k těmto příznakům přidá vyrážka a tzv. „malinový jazyk“ hovoříme o spále. Rozdíl mezi angínou a spálou je v tom, že při spále streptokok produkuje pyogenní exotoxiny. Streptokok může také způsobit onemocnění zvané impetigo, při němž se na pokožce objevují puchýřky plněné hnisem. Dále také může způsobit zánět plic anebo zánět mozkových plen. Z historického hlediska se na nákazu streptokokem umíralo často na poporodní infekce. Porodníci si řádně nedesinfikovali ruce a přes ně se nákaza dostala do dělohy a následně přes placentu do krve, kde se zmnoží. Streptokok způsobuje po prodělání onemocnění pozdější následky, jako je poškození ledvinového glomerulu – glomerulonefritidu a revmatickou horečku. [32] Revmatická horečka postihuje srdce a klouby, vzniká při nedostatečném přeléčení antibiotiky streptokokové anginy. [38] Streptokokovou infekci léčíme podáním penicilinu, včasným podáním antibiotik můžeme zabránit nástupu pozdějších následků. Nicméně ani tato léčba není 100 %, protože pokud je streptokoková

infekce silná, bakterie se mohou dále množit a vytvářet proteiny, které účinkují proti penicilinu. [32]

Neisseria meningitis je gramnegativní kok, můžeme ho tedy nazvat jako meningokok. *N. meningitis* se přenáší vzduchem v kapénkách, v uzavřených prostorech s velkým množstvím osob nebo kontaktem sliznic. Jeho patogenita se liší a má různou řadu projevů. Za prvé ho můžeme najít jako součást přirozené mikroflóry u 10 % zdravých jedinců. Za druhé se může jednat o infekci, která neproniká dovnitř organismu. Příznaky připomíná zánět hrtanu jako by byl způsobený běžnými patogeny. Za třetí se může jednat o závažné invazivní nákazy jako je zánět mozkových plen a celková reakce organismu na infekci neboli sepsa. Tento mikroorganismus nejčastěji napadá dospívající jedince. Bohužel se infekce ze začátku projevuje jako chřipka, bývá často zahájena pozdě léčba a může mít fatální následky. [32] K prvním projevům patří tedy klasické chřipkové projevy, septická horečka, následně pak klasické příznaky meningitidy jako je vysoká teplota nebo bolesti kloubů a hlavy, a vyrážka. [32, 39] Jakým způsobem se infekce projeví závisí na virulenci bakterie a na imunitním systému a fyzickém stavu postiženého jedince. Meningokokovi vytváří ideální prostředí pro nákazu kuřáci, protože jejich sliznice v dýchacích cestách je více poškozená než u nekuřáků. Dále postihuje osoby oslabené virovým zánětem hltanu. Meningokok se pravděpodobně do mozkových plen dostává skrz krevní oběh nebo dutinou nosní. U nás probíhá léčba penicilinem, jelikož jsou u nás na něj meningokoci citliví. [32] Jako prevence je zavedeno dobrovolné očkování proti 5 nejběžnějším typům. Jako další prevence je omezení stresu, kouření, návštěv prostorů s velkým množstvím osob a zlepšení životního stylu. [39]

Legionelly jsou gramnegativní tyčky. Nejdůležitější je *Legionella pneumophila*. Pokud toto onemocnění doprovází příznaky, může se jednat o dva různé druhy nákazy. Jedním z nich je legionářská horečka, která má inkubační dobu od dvou po deset dní, projevuje se horečkami, nepříjemným chvěním, bolestí na hrudi, kašlem

a zmateností. Hlavním projevem je zápal plic doprovázený vznikem zánětlivých ložisek v plicní dutině. Pokud se nezavede včasná léčba, je nemoc fatální. Vyšší náchylnost pro onemocnění mají senioři, kuřáci a osoby po transplantacích. Druhým onemocněním je tzv. Pontiacká horečka, která se projevuje jako chřipkové onemocnění, tedy horečkami a zimnicí, bolestmi svalů a pocitem na zvracení. [32] *Legionella* se šíří prostřednictvím inhalace kontaminovaného aerosolu z vody, klimatizačního systému. Inkubační doba je od dvou po deset dní. Někdy se může stát, že se symptomy objeví až 3 týdny po setkání s nákazou. *Legionella* není přenosná z člověka na člověka. Většina případů je izolovaná, ale může se vyskytnout. [33]

Mycoplasma pneumoniae je běžný respirační patogen, který vyvolává onemocnění s různou intenzitou, tedy od mírné infekce horních cest dýchacích až po těžkou atypickou pneumonii. *M. pneumoniae* napadá hlavně děti od 5 do 15 let, u mladších dětí a starších osob je tato nákaza neobvyklá. Projevuje se různě např. neurologickými projevy, jaterními a srdečními onemocněními. Tento patogen se usazuje na respiračním epitelu. U dospělých osob se nemoc projevuje mírně nebo bez příznaků. Symptomy tohoto onemocnění se projevují po několika dnech a přetrvávají týdny až měsíce. Projevuje se zánětem hltanu, bolestí v krku, chrapotem a horečkou. Onemocnění léčíme antibiotiky pouze v případě, že se jedná o těžší formu nákazy, nasazují se makrolidová antibiotika. [44]

2.6.2 Významný patogen přenášený kontaktem

Staphylococcus aureus neboli zlatý stafylokok je koaguláza pozitivní grampozitivní kok. Můžeme ho nalézt v normální flóře u některých osob, kterým nezpůsobuje žádné problémy. Nicméně pokud jakýmkoliv způsobem dojde k oslabení imunity, projeví se jako patogen a může způsobit až velmi závažné záněty. *Staphylococcus aureus* je celkem odolný k vlivům vnějšího prostředí. Je rezistentní vůči vyschnutí, a to i v hnisu. Odolává teplotám do 60 °C a alkoholu. S.

aureus způsobuje hnisavé infekce, které jsou běžné. Vstupuje do organismu skrz poraněnou kůži např. popáleninami. Při infekci se tvoří absces, který je plný hnisu skládajícího se z bílých krvinek a bakterií. Stejně jako *Streptococcus pyogenes* vyvolává infekci pokožky, převážně se vyskytuje u dětí. Na kůži se jim tvoří puchýřky plněné hnisem. V oku vytváří infekci tzv. „ječné zrno“, což je zánět žlázy ve víčku. U žen vyvolává infekci mléčných žláz tzv. mastitidu. Aby se *Staphylococcus aureus* dostal do lymfatických uzlin, musí se organismu dostat přes poranění, ideálně by v něm měly být třísky nebo špína, aby se dostal do krevního oběhu. Následně může dojít až k sepsi, ale vzhledem k tomu, že infekce mohla vzniknout z velmi malého poranění, nebývá zlatý stafylokok považován za původce. Pokud se krví dostane do vnitřních orgánů, kde vznikají abscesy. Velmi nebezpečná je endokarditida, při ní se uvolňují částičky se stafylokokem a jsou roznášeny do těla, kde metastází vznikají abscesy. Pro zahájení léčby je ideální chirurgický zásah, rána se otevře a zánět se vypustí. Následně se nasadí léčba antibiotiky, nicméně protože většina stafylokoků je rezistentní vůči penicilínu, jsou nasazováni např. oxacilin spolu s cloxacilem. Bohužel se objevily kmeny, které jsou rezistentní i na tuto antibiotika. Nazýváme je zkratkou MRSA neboli Methicilin Rezistentní *Staphylococcus Aureus*, většina z nich osidluje nemocnice. V současné situaci není vyvinuta žádná vakcína, která by se dala využít k prevenci těchto infekcí. Infekci můžeme částečně předejít řádným vyčištěním ran. [32]

2.7 Kultivační půdy

K identifikaci bakterií je nutná jejich kultivace a následná identifikace. Bakterie rostou na pevné půdě, kde roste v koloniích nebo v bujónu, kde se projevuje zákalem. Abychom připravili pro mikrobi výživnější prostředí, použijeme masovou infuzi, kterou enzymaticky rozložíme, tím vytvoříme látku zvanou peptony. [18]

Bujón je složený z vývaru hovězího masa, peptonů a chloridu sodného. Slaností je podobný fyziologickému roztoku, pH se pohybuje v rozmezí 7,2-7,4. [18]

2.7.1 Pevné půdy

Pro přípravu pevné půdy je potřeba 1,5-2 % agar, bujón a teplota až 80°C. Do bujónu se za dané teploty přidá agar a za 40 °C se nalévá do Petriho misek. [18]

Krevní agar je půda obohacená o krevní složky. Je složený z 5-10 % z beraní krve, kterou jsme defibrinovali. Roste na něm většina klinicky významných mikroorganismů. Krevní agar nám umožňuje odlišit hemolytické kmeny bakterií. Díky tomu můžeme bakterie rozlišit na α -hemolytické (např. *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mutans*), β -hemolytické (např. *Streptococcus pyogenes*) a γ -hemolytické. Hemolýzu využíváme při Christie-Atkins-Munch-Petersenově testu. [19] α -hemolýza se na agaru projeví zelenohnědými koloniemi, při β -hemolýze se rozkládá hemoglobin – hemolýza se na agaru projeví projasněním okolo kolonií, γ -hemolýza neprovádí na krevním agaru žádné změny. [24]



Obrázek 2 – Hemolýza na krevním agaru [51]

Desoxycholátový agar je půda selektivně diagnostická. Na této půdě nerostou grampozitivní bakterie a většina bakterií zkvašující laktózu. Rostou zde střevní bakterie. Vyšší koncentrace desoxycholátu sodného a citrátu sodného zabraňuje růstu nežádoucích bakterií. Na tomto agaru pozorujeme tvorbu sirovodíku a štěpení laktózy. Pokud na půdě vyrostou narůžovělé kolonie detekujeme kmeny štěpící laktózu (např. *E. coli*). Bakterie, které neštěpí laktózu mají bezbarvé kolonie (např.

Shigella flexneri). Bakterie, které produkují sirovodík, vytváří černé kolonie (např. *Proteus*). [19]

Muelerův-Hintonové agar je složený z hovězí infuze, kaseinového hydrolátu a škrobu. Dřív se převážně používal k určování patogenních neisserií, ale dnes se používá k testům citlivostí antibiotik. [19]

Endův agar je půda selektivně diagnostická. V klinické mikrobiologii na této půdě diagnostikujeme hlavně enterobakterie a gramnegativní nefermentující tyčky. Půda obsahuje zásaditý fuchsin, který zpomaluje růst grampozitivních bakterií. Můžeme zde detekovat i bakterie, které štěpí laktózu. Endův agar obsahuje také laktózu. Mikrobi, kteří laktózu štěpí rostou v tmavě červených koloniích a mohou mít i kovový odlesk (např. *E. coli*, *Klebsiella*). Pokud bakterie laktózu neštěpí rostou v bezbarvých koloniích. Jedná se převážně o střevní patogenní bakterie jako jsou např. *Salmonelly*, *Shigelly* nebo *E. coli*. Pokud na půdě vyrostou bílé kolonie jedná se o Kandidy. [19]

Žluč-eskulinový agar je selektivně diagnostická půda určená pro průkaz enterokoků a streptokoků. Můžeme ho využít k prvotnímu určení konkrétního druhu (např. *Enterobacter*, *Klebsiella*). Žluč obsažená v půdě potlačuje růst grampozitivních bakterií. Na půdě se tedy daří enterokokům a streptokokům, půda se v okolí kolonií do černa. [19]

Sabouraudův agar je půda obohacená o sacharidy. Můžeme ho označit za selektivní půdu, protože potlačuje růst některých bakterií. [19] Tento agar využíváme k pěstování plísní a kvasinek. [25]

2.7.2 Tekuté půdy

Bujón je masový vývar s přídavkem peptonů a chloridu sodného. Bujón lze využít jako půdu pro pomnožení bakterií. [18] **Masový vývar** se připravuje z čistého

masa bez šlach a tuku. Přidávají se **peptony**, to jsou látky, které vznikají enzymatickým trávením proteinů. K jejich přípravě používáme různé bílkoviny např. kasein, sóju apod. Použijeme-li k výrobě např. sóju bude výsledná půda vhodná pro kultivaci plísní, kvasinek nebo náročnějších bakterií. [19]

3 CÍL PRÁCE

Cílem této bakalářské práce je průkaz patogenních mikrobů v prostředí městské hromadné dopravy, zejména na tyčích a sedáčkách. Z těchto míst budou provedeny stěry, a bude provedena kultivace a podrobnější vyšetření těchto vzorků. Statisticky bude vyhodnoceno zastoupení patogenů a budou zvážena rizika přenosu.

4 METODIKA

4.1 Odběr materiálu

Odběr materiálu provádíme suchým vatovým tampónkem, vatovým tampónkem namočeným ve fyziologickém roztoku a vatovým tampónkem, který vkládáme do zkumavky s živnou půdou. [30]

Odběrový tampón vyjmeme z obalu, otáčivým pohybem setřeme plochu 10x10 cm a tampón vrátíme zpět do obalu nebo zkumavky. [30]

4.2 Kultivace

Bakterie kultivujeme na uměle vytvořených živných půdách jako je Krevní agar, Endův agar, agar Muellerův-Hintonové, Desoxycholátový agar, žluč-eskulinový agar a Sabouraudův agar. [6] Stěrovým tampónkem nanášíme vzorky na kultivační půdy. [7] Aby mikrob vyrostl a pomnožil se potřebuje vodu, zdroj energie, živiny; vhodnou teplotu, atmosféru, pH, osmotický tlak. [26]

Ideální teplota pro pěstování bakterií je 37 °C. Bakterie inkubujeme v termostatu, kde teplota kolísá maximálně o $\pm 0,1$ °C a na dno termostatu umístíme nádobu s vodou, která svými výpary zvlhčuje prostředí termostatu. [26]

4.3 Gramovo barvení

Na podložní sklíčko dáme kapku fyziologického roztoku. Z kultivační půdy vybereme kolonii a pomocí kličky ji přeneseme do fyziologického roztoku a rozetřeme po sklíčku. Vzniklou suspenzi necháme zaschnout. Po zaschnutí zafixujeme sklíčko protažením skrz plamen. [8]

Zafixovaný preparát převrstvíme krystalovou violetí na 20 vteřin. Krystalovou violeť opláchneme Lugolovým roztokem a převrstvíme čistým Lugolovým

roztokem a necháme 20 vteřin působit. Obarvený preparát odbarvujeme acetonem pár sekund, a pak ho opláchneme vodou. Pro dobarvení použijeme karbolfuchsin a necháme ho působit 30-60 vteřin. Po obarvení ho opláchneme a osušíme. [8]

Obarvený preparát pozorujeme pod mikroskopem, jedná-li se o modré zbarvení pozorujeme grampozitivní bakterie, u červeného zbarvení pozorujeme gramnegativní bakterie. [6, 8]

4.4 Světelná mikroskopie

Mikroskop je jedna z nejdůležitějších pomůcek pro identifikaci mikroorganismů. [6] Abychom mohli mikroby pod mikroskopem pozorovat, tak používáme objektiv s imerzním olejem při zvětšení 100x. Za použití barvicích metod v preparátech rozlišujeme tvary, velikosti a barvy jednotlivých mikrobů. [41]



Obrázek 3 – Světelný mikroskop

(Vlastní fotografie)

1. Okulár, 2. Tubus, 3. Objektivy, 4. Stolek, 5. Držák sklíček, 6. Stativ, 7. Šroub ke křížovému posunu, 8. Makrošroub, 9. Mikrošroub, 10. Ovládání intenzity světla, 11. Zdroj osvětlení, 12. Vypínač [43]

Na sklíčko s obarveným preparátem dáme kapku imerzního oleje. Sklíčko umístíme na stolek mikroskopu. Imerzní objektiv pomocí makrošroubu dostaneme do kapky imerzního oleje. Při otáčení makrošroubem se díváme z boku, dokud se objektiv nedotkne oleje. Následně opatrně otáčíme mikrošroubem, dokud neuvidíme pozorovaný objekt. [42]

4.5 Další průkazy k určení patogenu

4.5.1 Burriho barvení

Tato metoda nám umožňuje zobrazení pouzder bakterií. [9]

Na podložní sklíčko dáme kapku tuže, do tuže pomocí kličky přeneseme kolonii a roztáhneme na sklíčku. Necháme zaschnout. [9]

Sklíčko převrstvíme krystalovou violetí. V mikroskopu pozorujeme fialově zabarvené bakterie, bezbarvé pouzdro a tmavé pozadí. [9]

4.5.2 Ziehl – Neelsenovo barvení

Na podložní sklíčko dáme kapku fyziologického roztoku. Z kultivační půdy vybereme kolonii a pomocí kličky ji přeneseme do fyziologického roztoku a rozetřeme po sklíčku. Vzniklou suspenzi necháme zaschnout. Po zaschnutí zafixujeme sklíčko protažením skrz plamen. [34]

Preparát převrstvíme karbolfuchsinem a necháme působit 3-5 minut. Následně ho odbarvíme alkoholem. Preparát opláchneme vodou. A následně ho převrstvíme malachitovou zelení na ½-1 minutu. Preparát opláchneme vodou a usušíme nad

plamenem. Preparát si prohlédneme v mikroskopu pod imerzním objektivem. Toto barvení používáme k průkazu bakterií, které nelze obarvit metodou dle Grama (tedy acidorezistentní bakterie). Bakterie budou červené. [34]

4.5.3 Wirtz – Conklinovo barvení

Na podložní sklíčko dáme kapku fyziologického roztoku. Z kultivační půdy vybereme kolonii a pomocí kličky ji přeneseme do fyziologického roztoku a rozetřeme po sklíčku. Vzniklou suspenzi necháme zaschnout. Po zaschnutí zafixujeme sklíčko protažením skrz plamen. [34]

Preparát barvíme nad kahanem. Postupně přidáváme Malachitovou zeleň (asi 3x nebo 4x) asi 5 minut do výstupu par. Nesmíme nechat preparát úplně uschnout. Preparát opláchneme vodou a převrstvíme karbolfuchsinem po dobu 1-3 minut. Vysušíme filtračním papírem. [34]

Pozorujeme pod mikroskopem s imerzním objektivem. Bakterie budou červené a jejich spory, které tímto barvením prokazujeme budou zelené. [34]

4.5.4 Latexová aglutinace

Latexovou aglutinací prokazujeme korpuskulární antigen, který bakterie obsahují. Pokud je přítomen, tak se v přítomnosti specifických protilátek sráží. [11, 12] Kolonie stafylokoka, které obsahují koagulázu reagují s latexovým činidlem do 20 sekund za vzniku aglutinace. [31]

Připravíme si kartičku se dvěma kolečky. Do prvního kolečka dáme 1 kapku latexového činidla (obsahuje IgG a fibrinogen). Do druhého kolečka dáme 1 kapku kontrolního latexového činidla. Do každého kolečka přidáme 2 kolonie vyšetřovaného stafylokoka a rozmícháme. Sledujeme aglutinaci. [31]

4.5.5 Katalázový test

Katalázovým testem prokazujeme peroxidázu. Můžeme jím odlišit bakterie z rodu *Staphylococcus* (pozitivní kataláza) a *Streptococcus* (negativní kataláza). [10]

Na kolonie nakapeme peroxid vodíku. Pokud se vytvoří bublinky kyslíku znamená to, že bakterie produkuje peroxidázu. [10]

4.5.6 Test na přítomnost vázané koagulázy

Přítomnost vázané koagulázy prokazujeme přidáním králičí plazmy, která obsahuje fibrinogen, tvorbou shluků buněk neboli aglutinací. Vázaná koaguláza váže fibrinogen a mění ho na fibrin. Prokazujeme jím převážně *Staphylococcus aureus*. [17]

Na podložní skličko nanese kapku fyziologického roztoku. Sterilní kličkou dáme do kapky vybranou kolonii a rozetřeme až vznikne zákal. Ke vzniklé suspenzi přidáme králičí plazmu a promícháme. Následně uděláme negativní kontrolu, kde smícháme pouze fyziologický roztok s bakteriální kolonií. [17]

Do 2 minut bude vidět výsledek. Pozorujeme na tmavém pozadí. Pokud je koaguláza přítomna tvoří se shluky. [17]

4.5.7 Průkaz cytochromoxidázy

Pokud je přítomný enzym cytochromoxidázy pozorujeme změnu zbarvení. Prokazujeme ho v reakci s N, N-dimethyl-1, 4- fenyldiaminem s α -naftolem za vzniku indolfenolové modři. [16]

Testovací proužek přitiskneme na testovanou kolonii, barevný výsledek vyhodnocujeme po minutě. [16]

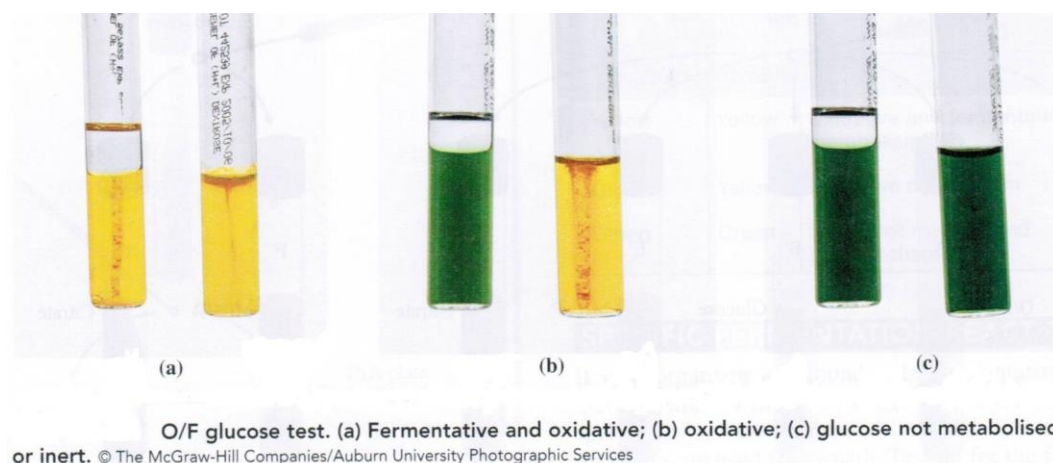
Výsledek je pozitivní (přítomnost cytochromoxidázy) testovací proužek bude zabarven do modra. Výsledek je negativní, pokud je proužek zabarven do žluta, růžova, bezbarvý. [16]

4.5.8 Oxidačně-fermentační test

Oxidačně fermentační test používáme ke zjištění, jestli jsou bakterie schopné růst v anaerobním prostředí. Ve zkumavkách je roztok glukózy, který slouží k jejich výživě. [14]

Sterilní kličkou nabereme kolonii a naneseeme ji do dvou připravených zkumavek. Jednu ze zkumavek překryjeme 1 cm parafínového oleje (ten vytváří anaerobní prostředí). Druhou zkumavku necháme „otevřenou“. Zavičkujeme a dáme do termostatu na 24 hodin. [15]

Zkumavky žluté značí výskyt fakultativně anaerobních bakterií, pokud je zkumavka s parafínovým olejem zelená a druhá žlutá je mikrob striktně aerobní. Pokud jsou obě zkumavky zelené mikrob nemetabolizuje glukózu. [15]



Obrázek 4 – OF test [52]

4.5.9 Christie-Atkins-Munch-Petersenův test

Christie-Atkins-Munch-Petersenův test neboli CAMP test se používá k odlišení druhu *Streptococcus agalactiae* od jiných beta-hemolytických streptokoků. [29]

Hemolytická aktivita β -hemolyzinu produkovaného většinou *Staphylococcus aureus* je zvýšena extracelulárním proteinem produkovaným streptokoky skupiny B. Interakce β -hemolyzinu s tímto proteinem způsobuje hemolýzu, kterou lze snadno pozorovat na krevním agaru. [29]

Do středu krevního agaru na vytvoříme přímou čáru *Staphylococcus aureus*, který produkuje β -hemolyzin. Zkoumanou bakterií uděláme přímou čáku ke stafylokokovi, musíme dávat pozor, abychom jej neporušili. Inkubujte při teplotě 35 °C po dobu 18-24 hodin. [29]



Obrázek 5 – Pozitivní CAMP test [53]

4.5.10 Enterotest

Sterilní kličkou nabere narostlou kolonii a rozpustíme ji ve 3 ml fyziologického roztoku ve zkumavce. Na McFarlandově zákalové stupnici by měla vzniklá suspenze odpovídat jejímu 1. stupni. [13]

Ze sáčku vyjme destičku a odřízneme příslušný počet jamek a odloupneme hliníkovou fólii. Do všech jamek napipetujeme 0,1 ml připraveného roztoku. Do jamek H-C v prvním řádku přidáme 2 kapky parafínového oleje. [13]

Destičku přikryjeme hliníkovou fólií a vložíme zpět do sáčku. Destičku vložíme do termostatu a inkubujeme 24 hodin. [13]

Po 24 hodinách přidáme činidla k následujícím jamkám. Do jamky H v 1. řadě přidáme 2 kapky indolu. Necháme inkubovat další půl hodinu. [13]

Po půl hodině vyndáme destičku a do jamky H ve 2. řadě přidáme 1 kapku fenylalaninu. [13]

Výsledek odečteme podle srovnávací barevné stupnice a zaznamenáme do formuláře, díky kterému jsme schopni identifikovat kmen. [13]

4.5.11 Bacitracinový test

Bacitracinový test používáme k rozlišení β -hemolytických streptokoků. [20]

Na krevní agar naočkujeme stěr. Pomocí pinzety na něj položíme papírek napuštěný bacitracinem. Inkubujeme 24 hodin při 37°C. [21]

Výsledek je pozitivní, pokud streptokok neroste kolem papírku, jedná se o *Streptococcus pyogenes*. Výsledek je negativní, pokud streptokok roste až k papírku, jedná se o *Streptococcus agalactiae*. [20]

4.5.12 Optochinový test

Optochinový test používáme k rozlišení α -hemolytických streptokoků. [22]

Na krevní agar naočkujeme stěr. Pomocí pinzety na něj položíme papírek napuštěný optochinem. Inkubujeme 24 hodin při 37 °C. [23]

Testem odlišujeme *Streptococcus pneumoniae* od ostatních streptokoků. Pokud streptokok neroste v okolí papírku, jedná se o *Streptococcus pneumoniae*. [22]

4.5.13 Maldi-tof

Maldi-tof je identifikační metoda, kterou používáme k přesnému rozlišení bakterií, kvasinek a plísní, založená na odlišnosti struktury proteinů v rámci rodů, druhů a kmenů. Využívá techniky hmotnostní spektrofotometrie. [27]

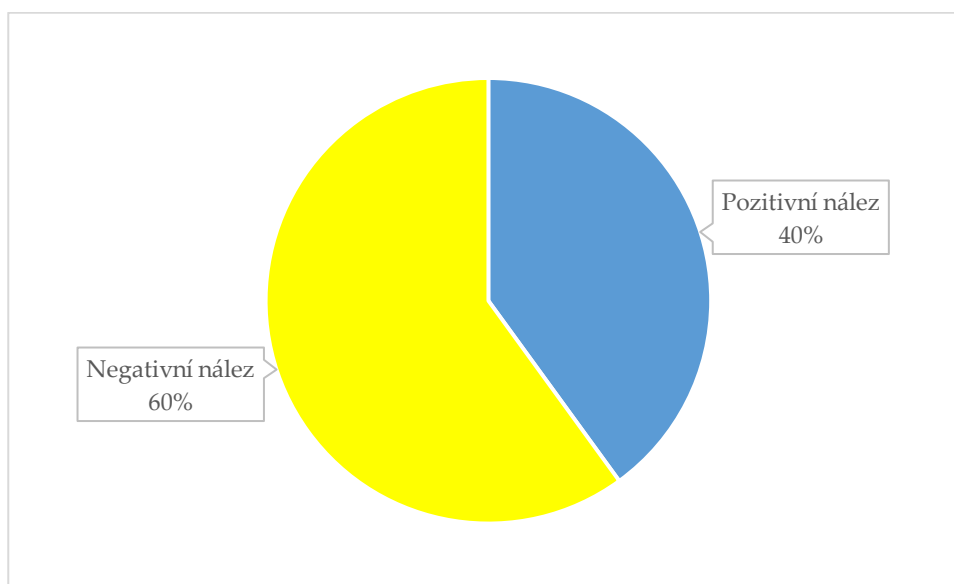
Touto technologií stanovujeme proteiny o vyšší molekulové hmotnosti za použití tzv. matrice, což je látka, která zabraňuje štěpení vzorku při působení ionizační energie laserem. Používá se společně s detektorem doby letu. Měří se čas, za který částice proletí a z toho můžeme vypočítat její rychlost. [28]

Vybranou kolonii přeneseme na nosič, přidáme matrici a necháme vzorek uschnout a vložíme do analyzátoru. Výsledek je vyhodnocen porovnáním proteinového profilu měřeného vzorku s údaji v databázi jednotlivých kmenů, analyzátor porovná hmotnostní spektra. [27]

5 VÝSLEDKY

Bylo odebráno 40 vzorků z prostředí městské hromadné dopravy – tyčí, madel a sedaček (čalouněných a dřevěných). Za použití výše uvedených diagnostických postupů pro rutinní laboratorní průkaz infekčního agens jsem zjistila, že v prostředí městské hromadné dopravy se vyskytují patogenní mikroorganismy jak na zadržovacích tyčích, madlech sedadel i sedačkách.

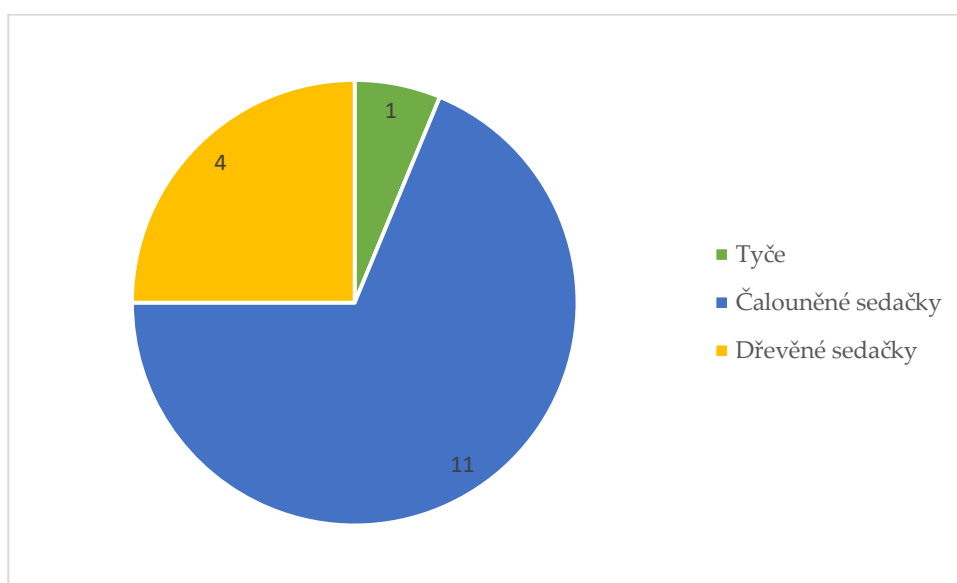
Z provedených stěrů byly identifikovány bakterie a plísňe, které jsou prokazatelně vyvolavateli onemocnění člověka. Zachyceny byly: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus species*, *Neisserie*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Morganella morganii*, 2x *Klebsiella ozaenae*, *Klebsiella species*, *Hafnia alvei*, *Escherichia vulneris*, *Escherichia coli*, z kvasinek pak *Candica albicans*. Dále jsme identifikovali 2x *Bacillus subtilis*, *Mikrococcus spp.*, *Coccobacillus*, a bakterie z rodu *Neisseria* pocházející z dutiny ústní a orofaryngu. Ze 40 odebraných vzorků byly patogenní mikroorganismy prokázány v 16, což je 40 % úspěšnost záchytu.



Obrázek 6 – Procentuální zhodnocení nálezu
(Vlastní zdroj)

Tabulka 1 – Zastoupení jednotlivých patogenů

Mikroorganismus	Počet	Procento [%]
<i>Morganella morganii</i>	1	6,25
<i>Hafnia alvei</i>	1	6,25
<i>Klebsiella ozaenae</i>	2	12,5
<i>Neisseria</i>	1	6,25
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	1	6,25
<i>Bacillus subtilis</i>	2	12,5
<i>Candida albicans</i>	1	6,25
<i>Klebsiella species</i>	1	6,25
<i>Escherichia coli</i>	1	6,25
<i>Escherichia vulneris</i>	1	6,25
<i>Coccobacillus</i>	1	6,25
<i>Enterococcus species</i>	1	6,25
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	6,25
<i>Mikrococcus spp.</i>	1	6,25
Celkový počet patogenů	16	100



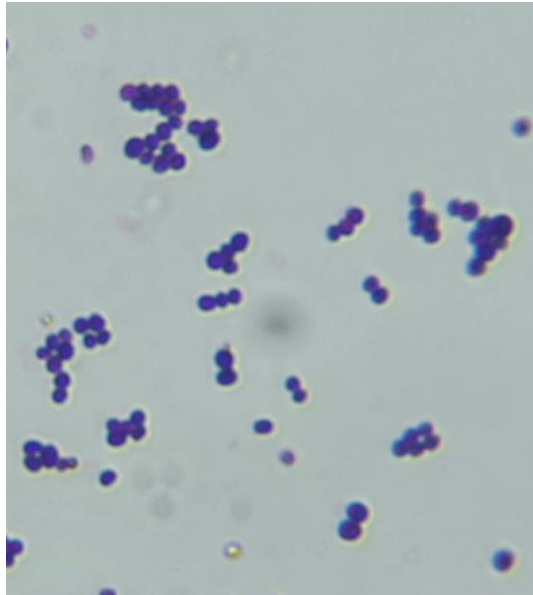
Obrázek 7 – Počet nalezených mikrobů

(Vlastní zdroj)

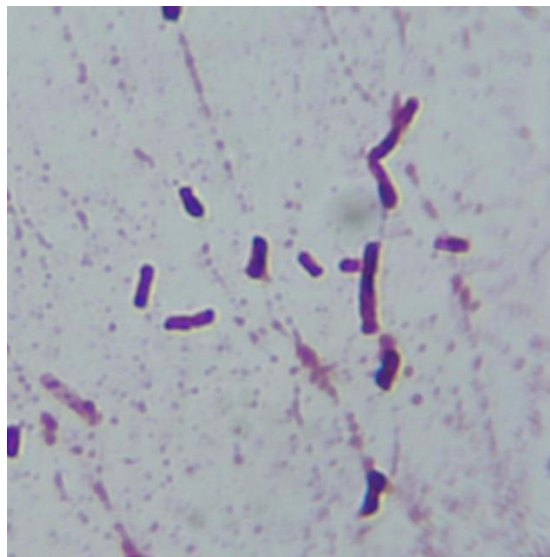
Na zadržovacích tyčích z nerezavějící oceli byl nalezen mikrobiální patogen pouze v jediném případě z 10, a to *Staphylococcus aureus*. Byly setřeny dřevěné a čalouněné sedačky. Dřevěné sedačky dopadly lépe, na nich bylo nalezeno menší množství patogenních mikrobů, a to *Klebsiella ozaenae*, *Escherichia coli*, *Morganella*

morganii a *Hafnia alvei*. Na plyšových sedačkách bylo nalezeno velké množství patogenních mikrobů, a to *Klebsiella species*, *Klebsiella ozaenae*, *Escherichia vulneris*, *Yersinia pseudotuberculosis*, 2x *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Mikrococcus spp.*, *Coccobacillus*, *Neisserie* a *Enterococcus species*.

Pořízené fotografie některých nalezených mikrobů:



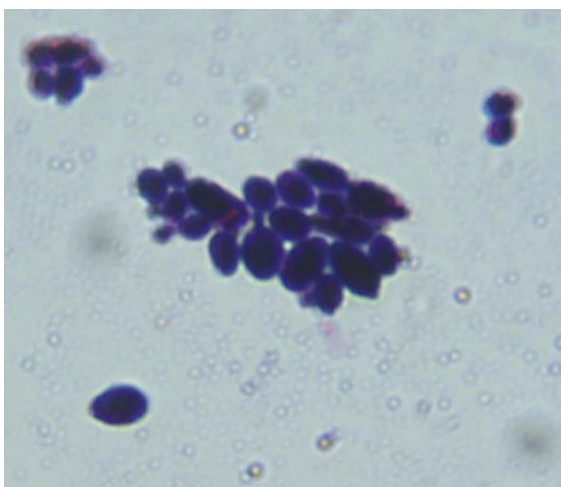
Obrázek 8 – *Staphylococcus aureus*
(Vlastní fotografie)



Obrázek 9 – *Klebsiella species*
(Vlastní fotografie)



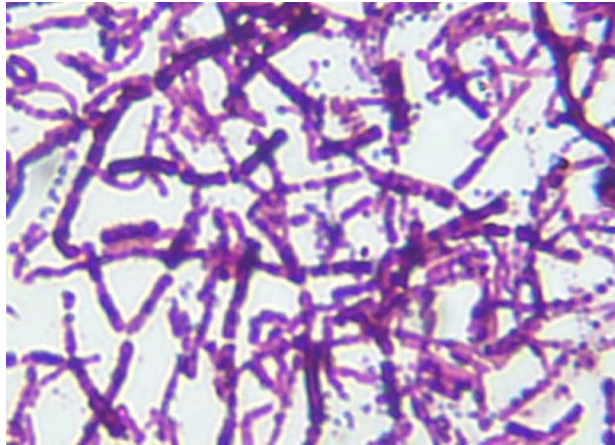
Obrázek 10 – *Yersinia pseudotuberculosis*
(Vlastní fotografie)



Obrázek 11 – *Candida albicans*
(Vlastní fotografie)

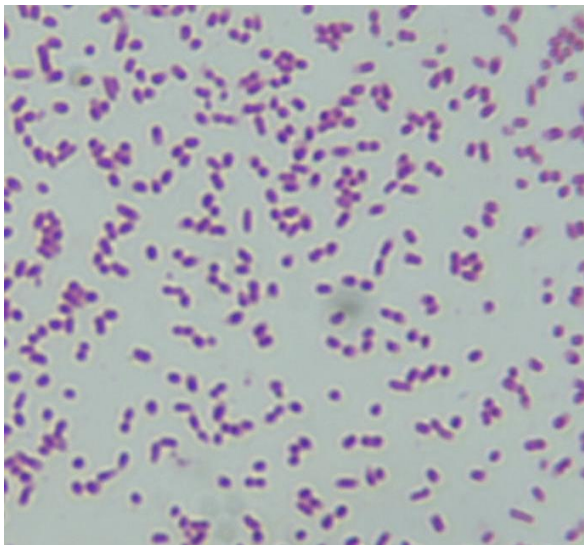


Obrázek 12 – *Bacillus subtilis*
(Vlastní fotografie)



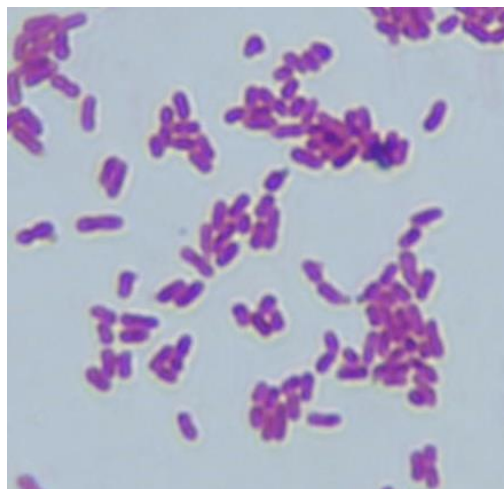
Obrázek 13 – *Klebsiella ozaenae*

(Vlastní fotografie)



Obrázek 14 – *Morganella morganii*

(Vlastní fotografie)



Obrázek 15 - *Escherichia vulneris*

(Vlastní fotografie)



Obrázek 16 – *Hafnia alvei*
(Vlastní fotografie)

6 DISKUZE

Původním předpokladem bylo, že se v prostředí městské hromadné dopravy budou převážně vyskytovat patogeny, které se přenášejí vzdušnou cestou (zmíněné v kapitole 2.6). Nicméně je z výsledků patrné, že tomu tak úplně není. Ve stěrech však byly nalezeny patogenní mikroby přenosné i jinak.

Enterococcus species je grampozitivní kok, který se může vyskytovat jak jednotlivě, tak ve dvojicích i v řetízcích. Enterokoky jsou běžnou součástí střevní mikroflóry. Mohou způsobovat jak exogenní, tak endogenní infekci. Enterokoky jsou snadno přenosné. Enterokoky jsou méně uvnitř méně virulentní než např. *Staphylococcus aureus* nebo *Streptococcus* ze skupiny A. [33] Jsou poměrně odolné, odolávají fyzikálním a chemickým účinkům – přežijí až 30 minut při 60 °C, vyrostou i v přítomnosti 6 % chloridu sodného a v zásaditějším prostředí. [1] Enterokoky využívají tkáňové produkty jako faktory virulence, protože nemají toxiny. Léčíme je např. ampicilinem. [32]

Staphylococcus aureus je již popsán v kapitole 2.6.2. Přenos nákazy je též možný dotykem, pokud by měl potenciální hostitel např. otevřená poranění na horních končetinách a sníženou obranyschopnost, a dotkl by se místa, kde se *S. aureus* vyskytuje. [33]

Neisserie jsou gramnegativní koky, můžou být součástí normální mikroflóry. Záchyt *Neisseria gonorrhoeae* předpokládat nelze nejen proto, že je přenosný pohlavním stykem, což je v MHD málo pravděpodobné, zejména však pro jeho mikroaerofilii, přenos meningokoka (*Neisseria meningitis*, viz. kapitola 2.6.1.) vyloučit nelze. V našem případě šlo o záchyt orálních neisserií, považovaných za nepatogenní. Přenos ústních neisserií je možný vzdušnou cestou. [32]

Yersinia pseudotuberculosis je gramnegativní tyčka, která vyvolává infekce střev. Tato bakterie často napodobuje zánět appendixu. [32] Způsobuje bolesti břicha,

průjmy a horečnaté stavy. [33] Lidé se obvykle nakazí kontaktem s vodou znečištěnou infikovanými zvířaty nebo pozřením kontaminované zeleniny nebo orofekálně z vepřového masa. [32, 33] Infekce způsobená přímým kontaktem se zvířetem je nepravděpodobná. U lidí se infekce způsobená *Yersiniemi* se vyvíjí od bez příznakového období až po onemocnění podobné tyfu s horečkou, purpurou a abnormálně zvětšenými játry. Napadá častěji chlapce než dívky ve věku 5–15 let. *Yersinii pseudotuberculosis* můžeme léčit např. penicilinem nebo ciprofloxacinem. [33]

Klebsiella species je gramnegativní tyčka. [32] *Klebsiella* je obvykle neškodná, vyskytuje se v normální mikroflóře střev. [33] Snadno se dostává dovnitř organismu, protože mají schopnost přežít mimo střevo. *Klebsiella* je nejčastějším původcem infekcí močových cest, dále je také častým původcem infekce cest dýchacích. Přenáší se orofekální cestou, přenos je také možný blízkým kontaktem s infikovanou osobou nebo vzduchem. Pro léčbu jsou vhodné cefalosporiny nebo také chinolony. [32]

Klebsiella ozaenae je gramnegativní tyčka. Je to poddruh *Klebsielly pneumoniae*. [32] *K. ozaenae* způsobuje ozénu, což je onemocnění postihující sliznici v dutině nosní. Na sliznici se tvoří zapáchající shluky. Jedinci napadení ozénou mají problémy s čichem, dochází ke snížení citlivosti. [47]

Morganella morganii je gramnegativní tyčinka. *M. morganii* se běžně vyskytuje v životním prostředí, se umí se mu dobře přizpůsobit, a proto se může v něm dobře šířit. Je běžnou součástí střevní mikroflóry u lidí a zvířat. Je to původce močových infekcí a infekce ran. [45] Často způsobuje infekce při zavedení permanentního katetru. [42]

Escherichia coli je gramnegativní tyčinka. *E. coli* se normálně vyskytuje v přirozené mikroflóře střev. Za normálních okolností je pro nás velmi prospěšná, chrání střevo před patogenními mikroorganismy a např. pomáhá syntetizovat vitamín K. *E. coli* je podmíněný patogenní mikroorganismus, pokud má kmen určité

faktory virulence, může způsobovat infekce. Pokud ji nalezneme jinde než ve střevech, tak se většinou jedná o patogen. [32] Je nejčastější příčinou nekomplikovaných infekcí močových cest. Klinický se projevuje od zánětu močové trubice a zánětu močového měchýře po bakteriální zánět ledvin a sepse. Mnoho původců infekce močových cest pochází z vlastního střeva nemocného jedince a způsobuje infekci vzestupnou cestou. Tyto kmeny mohou obsahovat další faktory virulence, jako je hemolysin, plazmidy a rezistence k baktericidnímu účinku séra závislém na komplementu. [33] Pokud působí ve střevě mohou se, za prvé usazovat na sliznici střeva novorozenců a způsobovat jim průjmy. Za druhé způsobuje vodnaté průjmy, jestliže produkuje tepelně labilní enterotoxin, do střev dostane velké množství vody a elektrolytů. Za třetí způsobují průjmy u osob, kteří vycestovali z ekonomicky vyspělých zemí do rozvojových zemí. Za čtvrté může způsobovat krvavé průjmy, které jsou podobné shigellovým nákazám. *E. coli* také nalézáme v močových cestách, stává se tomu tak pokud je přenesena ze střev do močové trubice. Také může způsobovat záněty dýchacích cest, zánět ran a sepse. *Escherichia coli* se přenáší orofekální cestou, protože je vcelku odolná, je možný přenos kontaktem. Pro léčbu jsou vhodné chinolony. [32]

Escherichia vulneris je gramnegativní tyčka. [32] *E. vulneris* je oportunní lidský patogen. Najdeme ji primárně u dospělých pacientů a u pacientů s potlačeným imunitním systémem, u kterých byly pozorovány invazivní infekce. *E. vulneris* může způsobovat komplikovaný průjem a sepse u dítěte. [46]

Hafnia alvei je gramnegativní tyčka. [32] *H. alvei* je oportunní patogen. Může způsobit nosokomiální infekce spojené s jinými bakteriemi jako je septikemie, zánět tenkého střeva, infekce močových cest, pneumonie, abscesy). *H. alvei* také může způsobovat průjmy. [48]

Candida albicans je kvasinka. *C. albicans* je nejběžnější příčina houbových infekcí. [33] *C. albicans* je poměrně odolná vůči kyselějšímu pH. U této kvasinky není

prozatím znám faktor virulence, ale předpokládá se, že za jeho virulencí stojí schopnost rychlého nárustu ve tkáni. Za patogen ji můžeme považovat v případě, že: 1. nedonošený novorozenec je krmen umělou výživou, pak je *Candida* považována za normální střevní mikroflóru a je mnohem větší riziko, že se projeví jako patogen. 2. došlo k hormonální změně - např. v těhotenství, při endokrinních poruchách (jako je diabetes mellitus). 3. delší dobu užíváme širokospektrá antibiotika, díky kterým dojde k porušení normální mikroflóry. 4. došlo ke snížení obranyschopnosti např. při těžkých nemocech. 5. došlo k porušení kůže při zavedení permanentních drénů nebo katetrů. Běžně je najdeme v malém množství v gastrointestinálním traktu a v pochvě dospělých žen. Způsobuje moučnivku, kterou poznáme podle bílých povlaků v ústech a na jazyku. Předpokládá se, že kvůli tomu, že umí odolat kyselému pH ji často nacházíme v pochvě způsobuje vaginální infekci. Na kůži ji nacházíme ve formě zapařenin např. u nepřebalených dětí, v podpaží nebo mezi prsty. K léčbě používáme klotrimazol. [32]

Bacillus subtilis je grampozitivní tyčka. Může vyvolávat onemocnění střev působením enterotoxinů, ale jinak je to slabě patogenní bakterie. [32]

Mikrococcus spp. je gramnegativní kok, který je lehce podmíněně patogenní, bývá často uspořádán do tetrad. Běžně ho najdeme na pokožce, v potravinách a ve vodě. Pokud napadne jedince s oslabenou imunitou, může u něj způsobit bakterémii nebo zánět srdeční nitroblány. [32]

Coccobacillus je druh bakterie, který je tvarově někde mezi kokem a tyčkou. Coccobacilly jsou tedy velmi krátké tyčky, které můžeme zaměnit za koky. [49] (Kvůli malému množství vzorku nebylo možné doučit přesný druh.)

Dopravní podnik hlavního města Prahy má ale odpovědi na můj dotaz zajištěný úklid dopravních prostředků, můžeme ho rozdělit na 3 části. Na tzv. noční úklid, generální úklid a mimořádný úklid. Noční úklid se provádí před každým výjezdem

vozu z vozovny, kdy je utřena plastová část sedaček a tyče suchou cestou. Generální úklid se provádí v rozmezí 4-6 týdnů, kdy se tyče a plastové části sedaček mokrou cestou. Strojní cestou se čistí čalouněné sedačky, provádí se tepování suchou pěnou a následně jejich vysátí. Mimořádný úklid se provádí při mimořádném znečištění vozu nebo podle předpisů i při úmrtí ve vozu, kdy se provede i jeho celková desinfekce. Podle hygienické stanice se provádí 1x ročně desinfekce vozu při výskytu epidemiologického onemocnění (jako je např. chřipka).

Pokud bychom měli zvážit rizika přenosu nákazy, tak pro zdravého člověka dodržujícího základní hygienické návyky, jako je např. mytí rukou po příchodu domů nebo mytí rukou před jídlem, nejsou tyto mikroorganismy hrozbou. Pokud by ale patogenní mikrob osídlil sliznice nebo otevřené rány osoby se sníženou imunitní odpovědí, je možné propuknutí onemocnění.

Doporučovala bych výměnu všech zbylých čalouněných sedaček za ty, které se dají celé mokrou cestou omýt nebo suchou cestou utřít (dřevěné nebo plastové), také by bylo na místě zvýšit frekvenci úklidů prostorů dopravních prostředků. Ideálně zavést generální úklid místo tzv. nočního úklidu. Také bych zavedla alespoň jednou měsíčně desinfekci celých prostorů vozů místo 1x ročně. Cestujícím bych doporučila dodržování základních hygienických návyků zmíněných výše.

7 ZÁVĚR

Hlavním cílem bakalářské práce „Výskyt sezónních patogenních mikrobu v dopravních prostředcích městské hromadné dopravy“ bylo zjistit, zda jsou v nich patogenní mikroby schopné např. v době sezónního zvýšeného výskytu infikovat cestující. Pátrali jsme po druzích *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Bordetella pertussis*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Neisserie meningitis*, *Legionella* nebo *Mycoplasma pneumoniae*. Z těchto druhů byl zachycen *Staphylococcus aureus* a orální druhy neisserií.

V tramvajových vozech byly i přes to zajímavé nálezy, a to *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus spp.*, *Neisserie*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Morganella morganii*, 2x *Klebsiella ozaenae*, *Klebsiella species*, *Hafnia alvei*, *Escherichia vulneris*, *Escherichia coli*, *Mikrococcus spp.*, *Coccobacillus*, *Candica albicans*, 2x *Bacillus subtilis*.

8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

BCG - Bacillus Calmette-Guérin

CAMP test – Christie-Atkins-Munch-Petersenův test

DNA – Deoxyribonukleová kyselina

IgA – imunoglobulin A

IgG – imunoglobulin G

MHD – městská hromadná doprava

MRSA – Methicilin Rezistentní Staphylococcus Aureus

OF test – oxidačně-fermentační test

pH – potencial of hydrogen

spp. - species

TBC – tuberkulóza

9 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] SCHINDLER, Jiří. *Mikrobiologie: Pro studenty zdravotních oborů. 2., doplněné a přepracované vydání*. Praha: Grada, 2014. ISBN 978-80-247-4771-2
- [2] NEXARS. *NEXARS: Vitamin B12 – cyankobalamin* [online]. [cit. 2017-11-13].
Dostupné z: <http://www.nexars.com/cs/uvod.php>
- [3] VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie obecná. 2. přepracované vydání*. Brno: Neptun, 2005. ISBN 80-86850-00-5.
- [4] BEDNÁŘ, Marek a kolektiv. *Lékařská mikrobiologie: Bakteriologie, virologie, parazitologie*. Praha: Triton, 1996. ISBN 80-238-0297-6.
- [5] ARTIS MICROPIA: *Microbiology from A to Z* [online]. In: . [cit. 2017-11-15].
Dostupné z: <https://www.micropia.nl/en/discover/microbiology/>
- [6] GOERING, Richard V. a kolektiv. *Mimsova lékařská mikrobiologie. 5. vydání*. Praha: Triton, 2016. ISBN 978-80-7387-928-0.
- [7] *Biologie-chemie* [online]. [cit. 2017-12-26]. Dostupné z: <https://biologie-chemie.cz/kultivace-mikroorganismu-maturitni-otazka-z-biologie/>
- [8] *Gramovo barvení* [online]. [cit. 2017-12-26]. Dostupné z:
<http://mikrobiologie.lf3.cuni.cz/bak/uceb/obsah/gram/gram.htm>
- [9] *Wikiskripta: Burriho barvení* [online]. [cit. 2018-02-13]. ISSN 1804-6517.
Dostupné z: https://www.wikiskripta.eu/w/Burriho_barven%C3%AD
- [10] *Wikiskripta: Katalázový test* [online]. [cit. 2018-02-13]. Dostupné z:
https://www.wikiskripta.eu/w/Katal%C3%A1zov%C3%BD_test
- [11] ŽAMPACH, MUDr. Pavel. *Datový standard MZČR* [online]. 2001 [cit. 2018-02-16]. Dostupné z:
<http://ciselniky.dasta.mzcr.cz/hypertext/200620/hypertext/BOPZAAC.htm>
- [12] *Aglutinační reakce* [online]. [cit. 2018-02-16]. Dostupné z:
<https://cit.vfu.cz/alimentarni-onemocneni/uni02/uni02.html>
- [13] *ENTEROtest 24* [online]. [cit. 2018-02-20]. Dostupné z:
<https://cit.vfu.cz/alimentarni-onemocneni/uni06/uni06.html>

- [14] Wikiskripta: *Oxidačně-fermentační test* [online]. [cit. 2018-02-20]. Dostupné z:
https://www.wikiskripta.eu/w/OF_test
- [15] Oxidative fermentative (OF) test: Principle, procedure and results. *Microbe online* [online]. [cit. 2018-02-20]. Dostupné z:
<https://microbeonline.com/oxidative-fermentative-test-principle-procedure-results/>
- [16] *Průkaz cytochromoxidázy - OXI test* [online]. [cit. 2018-02-24]. Dostupné z:
<https://cit.vfu.cz/alimentarni-onemocneni/uni09/uni09.html>
- [17] *Průkaz přítomnosti vázané koagulázy* [online]. [cit. 2018-02-24]. Dostupné z:
<https://cit.vfu.cz/alimentarni-onemocneni/sa02/sa02.html>
- [18] *Lékařská mikrobiologie*. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zdravotně sociální fakulta, 2007. ISBN 978-80-7394-021-8.
- [19] VOTAVA, Miroslav. *Kultivační půdy v lékařské mikrobiologii*. Brno: Hortus, 2000. ISBN 80-238-5058-X.
- [20] Wikiskripta: *Bacitracinový test* [online]. [cit. 2018-02-26]. Dostupné z:
https://www.wikiskripta.eu/w/Bacitracinov%C3%BD_test
- [21] Test bacitracin H. *ITEST plus, s.r.o.* [online]. [cit. 2018-02-26]. Dostupné z:
<https://www.itest-plus.cz/itest-bacitracin--h.html>
- [22] Wikiskripta: *Optochinový test* [online]. [cit. 2018-02-26]. Dostupné z:
https://www.wikiskripta.eu/w/Optochinov%C3%BD_test
- [23] Test optochin. *ITEST plus, s.r.o.* [online]. [cit. 2018-02-26]. Dostupné z:
<https://www.itest-plus.cz/itest-optochin.html>
- [24] SMÍŠEK, Jan. *Kultivace bakterií na pevných půdách* [online]. In: . ÚLM 3. LF UK, 2008, s. 44 [cit. 2018-02-26]. DOI:
http://mikrobiologie.lf3.cuni.cz/bak/vseob/P1v/kultivace_vs.pdf.
- [25] *Půdy* [online]. [cit. 2018-03-07]. Dostupné z:
<http://mikrobiologie.lf3.cuni.cz/bak/uceb/obsah/pudy/pudy.htm>
- [26] VOTAVA, Miroslav a kol. *Lékařská mikrobiologie vyšetřovací metody*. Brno: Neptun, 2010, 495 s. ISBN 978-80-86850-04-8.

- [27] Druhá identifikace mikroorganismů hmotnostní spektrometrií MALDI-TOF. *Státní veterinární ústav Jihlava* [online]. [cit. 2018-03-13]. Dostupné z: <http://www.svujihlava.cz/229-maldi-tof.html>
- [28] HAVLIŠ, Jan. Hmotnostní spektrometrie MALDI TOF. *Vesmír*. 1999, 78 (129)(8), 1. DOI: <https://vesmir.cz/cz/casopis/archiv-casopisu/1999/cislo-8/hmotnostni-spektrometrie-maldi-tof.html>. ISSN 0042-4544.
- [29] CAMP test: Principle, Procedure and results. *Microbe online* [online]. [cit. 2018-03-13]. Dostupné z: <https://microbeonline.com/camp-test-principle-procedure-results/>
- [30] SOP-ÚLBLD-KMATB-H1: Mikrobiologická kontrola prostředí - kultivačně. 7. ÚLBLD VFN a 1.LF UK, 2017.
- [31] *Latexová aglutinace: Průkaz vázané koagulázy*. Ústav imunologie a mikrobiologie, 1. lékařská fakulta, Univerzita Karlova a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze.
- [32] VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun, 2013. ISBN 80-902896-6-5.
- [33] TÖRÖK, Estée, Ed MORAN a Fiona COOKE. *Oxford Handbook of Infectious Diseases and Microbiology*. United States: Oxford University Press, 2009. ISBN 987-0-19-856925-1.
- [34] SMÍŠEK, Jan. *Mikroskopie v mikrobiologii & Mikrobiologická barvení: Výuková prezentace z: Lékařské bakteriologie* [online]. In: . ÚLM 3. LF UK, 2009, s. 5 [cit. 2018-04-10]. DOI: http://mikrobiologie.unas.cz/soubory/mikroskopie_tisk.pdf.
- [35] MUDr. Pavel Matras: *praktický lékař pro děti i dorost* [online]. [cit. 2018-04-12]. Dostupné z: <https://www.pmatras.cz/inpage/zruseni-ockovani-proti-tuberkuloze/>
- [36] *Očkování proti záškrtu, tetanu a dávivému kašli* [online]. [cit. 2018-04-12]. Dostupné z: https://www.vakciny.net/pravidelne_ockovani/DTP.htm

- [37] HÝSEK, Josef. Aerobiologie, věda o životě ve vzduchu. *Vesmír*. 1994, 73(10).
DOI: <https://vesmir.cz/cz/casopis/archiv-casopisu/1994/cislo-10/aerobiologie-veda-zivote-ve-vzduchu.html>. ISSN 0042-4544.
- [38] *Revmatická horečka* [online]. [cit. 2018-04-16]. Dostupné z:
<http://www.stefajir.cz/?q=revmaticka-horecka>
- [39] *Zánět mozkových blan, meningitida, meningokok* [online]. [cit. 2018-04-17].
Dostupné z: <https://www.ockovacentrum.cz/cz/meningokokove-nakazy>
- [40] ŠULCOVÁ, Margaréta. *Mikrobiologie, epidemiologie, hygiena*. Ústí nad Labem: Fakulta zdravotních studií, Univerzita J. E. Purkyně v Ústí nad Labem, 2014, 150 s. ISBN 978-80-7414-791-3.
- [41] FRÉBORTOVÁ, Jitka. *Laboratorní cvičení z mikrobiologie*. 1. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta, 2008. ISBN 978-80-244-2139-1.
- [42] *Poznámky k používání imerzního objektivu*. [online]. [cit. 2018-04-23]. Dostupné z:
<http://mikrobiologie.lf3.cuni.cz/bak/uceb/obsah/mikroskop/mikroskop.htm>
- [43] *Zvětšovací zařízení (lupa, světelný mikroskop)* [online]. In: . [cit. 2018-04-24].
Dostupné z: https://cit.vfu.cz/opvk2014/?title=teorie-svetelne_mikroskopy&lang=cz&goonpage
- [44] *Mycoplasma pneumonia: Clinical features and management* [online]. [cit. 2018-04-28]. Dostupné z:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2893430/>
- [45] LIU, Hui a Junmin ZHU. *Morganella morganii, a non-negligent opportunistic pathogen* [online]. [cit. 2018-05-01]. Dostupné z:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1201971216311134>
- [46] KILANI, Badreddine a Lamia AMMARI. *Escherichia vulneris as a cause of bacteremia in a patient with chronic lymphocytic leukemia* [online]. [cit. 2018-05-02]. Dostupné z: [https://www.ijidonline.com/article/S1201-9712\(07\)00079-3/fulltext](https://www.ijidonline.com/article/S1201-9712(07)00079-3/fulltext)

- [47] *Velký lékařský slovník: Ozéna* [online]. [cit. 2018-05-02]. Dostupné z:
<http://lekarske.slovníky.cz/pojem/ozena>
- [48] *ABIS Encyklopedia: Genus Hafnia* [online]. [cit. 2018-05-02]. Dostupné z:
<http://www.tgw1916.net/Enterobacteria/Hafnia.html>
- [49] *Coccobacillus* [online]. [cit. 2018-05-02]. Dostupné z:
<https://ipfs.io/ipfs/QmXoypizjW3WknFiJnKLwHCnL72vedxjOkDDP1mXWo6uco/wiki/Coccobacillus.html>
- [50] *Bakteriální buňka* [online]. In: . [cit. 2018-05-04]. Dostupné z:
http://www.wikiskripta.eu/w/Struktura_bakteri%C3%AD#/media/File:Average_prokaryote_cell_cs.svg
- [51] *Hemolytické vlastnosti bakterií na krevním agaru. Beta-hemolýza S. pyogenes uprostřed* [online]. In: . [cit. 2018-05-04]. Dostupné z:
https://cs.wikipedia.org/wiki/Streptococcus_pyogenes#/media/File:Streptococal_hemolysis.jpg
- [52] *O/F glucose test* [online]. In: . [cit. 2018-05-04]. Dostupné z:
<https://microbeonline.com/wp-content/uploads/2016/02/of-test-1.jpg>
- [53] *Pozitivní výsledek kultivačního CAMP testu. V tomto případě Streptococcus agalactiae. Svíslá inokulační čára Staphylococcus aureus.* [online]. In: . [cit. 2018-05-04]. Dostupné z:
https://www.wikiskripta.eu/w/CAMP_test#/media/File:Pozitivni_CAMP.JPG

10 SEZNAM POUŽITÝCH OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Bakteriální buňka.....	12
Obrázek 2 Hemolýza na krevním agaru.....	29
Obrázek 3 Světelný mikroskop.....	34
Obrázek 4 OF test.....	38
Obrázek 5 Pozitivní CAMP test.....	39
Obrázek 6 Procentuální zhodnocení nálezu	42
Obrázek 7 Počet nalezených mikrobů.....	43
Obrázek 8 <i>Staphylococcus aureus</i>	44
Obrázek 9 <i>Klebsiella species</i>	44
Obrázek 10 <i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	45
Obrázek 11 <i>Candida albicans</i>	45
Obrázek 12 <i>Bacillus subtilis</i>	45
Obrázek 13 <i>Klebsiella ozaenae</i>	46
Obrázek 14 <i>Morganella morganii</i>	46
Obrázek 15 <i>Escherichia vulneris</i>	46
Obrázek 16 <i>Hafnia alvei</i>	47

11 SEZNAMU POUŽITÝCH TABULEK

Tabulka 1 Zástupci jednotlivých patogenů.....	43
---	----