

ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biologických a lékařských věd

Studijní program: Zdravotnická bioanalytika

Autor: Bc. Adéla Diepoltová

Školitel: RNDr. Klára Konečná, Ph.D.

Název diplomové práce: Optimalizace metody vedoucí k hodnocení citlivosti biofilm formujících stafylokoků vůči kandidátním antimikrobním látkám

Cíl práce: Cílem práce bylo optimalizovat postup *in vitro* formace stafylokokových biofilmů na kolíčcích a v jamkách šestadevadesáti jamkové mikrotitrační destičky dle vzoru komerčně dostupného systému *The Calgary Biofilm Device*. V Experimentu 1 bylo třeba optimalizovat podmínky inkubace (vlivu média, módu inkubace, optické denzity počáteční bakteriální suspenze a vlivu místa formace biofilmu v rámci systému) vedoucí k maximálnímu nárůstu biofilmové hmoty dvou stafylokokových kmenů s neznámým biofilmovým fenotypem a u jednoho kmene definovaného jako silný producent biofilmu. Nejvhodnější kombinace podmínek byla využita při inkubaci klinických izolátů v Experimentu 2. Sbírkové klinické izoláty bylo cílem rozdělit do kategorií dle schopnosti formace biofilmu. Práce by měla navrhnout postup *in vitro* formace maximálně objemných stafylokokových biofilmů vhodných k hodnocení citlivosti vůči kandidátním antimikrobním látkám.

Metody: Hodnocení schopnosti formace stafylokokových biofilmů probíhalo spektrofotometricky, měřením intenzity extrahované krystalové violeti v jamkách mikrotitrační destičky s tepelně a chemicky fixovanou suspenzí stafylokoků.

Výsledky: V Experimentu 1 byla ověřena schopnost tvorby biofilmu u všech tří testovaných kmenů. Jako nejvhodnější inkubační médium bylo zvoleno Soyabean médium suplementované prasečí plazmou. Nejlepší výsledky dále zajistil mód inkubace se stálým mícháním suspenze o počáteční optické denzitě 0,1. Bylo zjištěno, že kolíčky víčka mikrotitrační destičky, které má naše laboratoř k dispozici, jsou pro formaci biofilmu nevhodné. Dále tedy probíhalo měření pouze v jamičkách. V Experimentu 2 bylo kategorizováno 25 stafylokokových klinických izolátů do skupin dle schopnosti produkovat biofilm za podmínek vybraných v Experimentu 1. Deset z nich bylo zařazeno do kategorie „Středně silný producent“ nebo „Silný producent“ biofilmů.

Závěry: S použitím známých producentů biofilmu je možné vybrat nejvhodnější podmínky k jeho formaci. Určité klinické izoláty stafylokoků jsou schopny za těchto podmínek formovat detekovatelnou biofilmovou hmotu, na níž je možné testovat účinnost kandidátních antimikrobních látek. Tyto kmeny lze označit za středně silné až silné biofilmové producenty.

Klíčová slova: Model „*Calgary Biofilm Device*“, hodnocení anti-biofilm aktivity, biofilm formující mikroorganismy, bakteriální rezistence vs. biofilm