

ABSTRAKT

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biologických a lékařských věd

Studijní obor: Bioanalytická laboratorní diagnostika ve zdravotnictví

Autor: Bc. Martina Nosková

Školitel: RNDr. Klára Konečná, Ph.D.

Název diplomové práce: Hodnocení efektivity vybraných metodických přístupů za účelem disagregace stafylokokové biofilmové biomasy

Cíl práce: Odhalit vliv vybraných biochemických a fyzikálních vlivů na disagregaci biofilmového společenství tvořeného bakterií *Staphylococcus aureus*. Pro biochemický přístup byl zvolen enzym proteinasa K, v rámci fyzikálních vlivů byl studován dopad sonikace, třepání s/bez skleněných kuliček.

Metody: Stafylokokový biofilm byl formován *in vitro*, ve dvou metodických uspořádáních – v rámci jamek mikrotitrační destičky a na kolíčcích (analogie Calgary Biofilm Device). Pro hodnocení míry konzistence získaných dat, odrážejících homogenitu odloučených biofilmových biomas byla volena „recovery“ metoda a metoda detekce metabolické aktivity pomocí indikátoru Alamar Blue. Pro vyjádření míry účinnosti volených přístupů na celkovou disagregaci biofilmového společenství byla volena metoda kvantifikace biofilmové biomasy barvením krystalovou violetí.

Výsledky: V případě biochemického přístupu (enzym proteinasa K) byl prokázán statisticky významný vliv na disagregaci stafylokokového biofilmu tvořeného jak v rámci jamek destičky, tak na kolíčcích. V případě fyzikálních vlivů, byl prokázán statisticky významný efekt pouze v případě kroků sonikace – třepání bez kuliček – sonikace, na biofilm tvořený v rámci jamek destičky. Dále bylo prokázáno, že jak biochemický, tak fyzikální přístup nepřispívá k homogenní disagregaci stafylokokové biofilmové biomasy. Tedy, volené přístupy disagregace nejsou vhodné pro případné navazující kroky k určené počtu viabilních biofilm-formujících buněk, například výsevové metody. Bylo také zjištěno, že většina volených fyzikálních přístupů (vyjma kroku třepání s kuličkami, pro model biofilmů na kolíčcích) neovlivňuje se statistickou významností viabilitu bakterií v biofilmovém společenství.

Závěry: Volené studované přístupy samy o sobě se jeví jako nepostačující pro významnou disagregaci. Jak biochemický, tak fyzikální přístup nezaručí získání homogenních kvantit biofilm-formujících bakterií. Výhledově budou hodnoceny další biochemické přístupy, společně s přístupy kombinující jak biochemický, tak fyzikální vliv.

Klíčová slova: bakteriální biofilm, disperze biofilmu, extracelulární polymerní substance, proteinasa K, sonikace