

## Abstrakt

Bakterie *Staphylococcus aureus* jsou lidské patogeny, které způsobují onemocnění různě závažného charakteru od lehkých infekcí kůže po těžké septické stavy. *S. aureus* často osidluje plíce pacientů s cystickou fibrózou a způsobuje dlouho trvající pneumonie, které pro tyto pacienty mohou být smrtelné. Infekce způsobené bakteriemi *S. aureus* se jako většina infekcí léčí antibiotiky. Neúspěšnost léčby často způsobuje přítomnost rezistentních kmenů. Bylo ale zjištěno, že na selhávání léčby má podíl i jiný typ odolnosti k antibiotikům – perzistence. Perzisteři jsou fenotypové varianty isogenní bakteriální populace, které jsou odolné k působení antibiotikům, i když nemají genetické determinanty podmiňující rezistenci. Fenomén perzistence u bakterií je zatím poměrně málo prozkoumaný jev.

Cílem mé diplomové práce bylo přispět k charakterizaci perzistence u *S. aureus*. Optimalizovali jsme metodu rychlé identifikace počtu perzisterů v bakteriální populaci po působení antibiotik metodou měření křivek hynutí. Touto metodou jsme dále zjistili, že vystavení osmotickému stresu způsobuje zvýšení počtu perzisterů v populaci o 1 – 2,5 řádu oproti nestresované kultuře. Dále jsme metodou kvantitativní PCR analyzovali expresi alternativního sigma faktoru *sigB*. Zjistili jsme, že *sigB* se exprimuje v podmínkách růstu s antibiotiky i při osmotickém stresu. Metodou průtokové cytometrie za použití fluorescenčních značek SYTOX green a C<sub>12</sub>-resazurin jsme určili počet živých a mrtvých buněk v populaci po působení testovaných antibiotik. Touto metodou jsme především chtěli identifikovat dormantní populaci, která často představuje perzistery. Metodu se nám ale zatím nepodařilo optimalizovat a tuto dormantní populaci jsme nemohli kvantifikovat. Do budoucna ale tato metoda po optimalizaci představuje užitečný nástroj pro rychlou identifikaci fyziologického stavu populace po působení antibiotik a tím může urychlit i zkoumání vzniku perzisterů.

**Klíčová slova:** *Staphylococcus aureus*, perzistence, působení antibiotik, křivka hynutí, *sigB*, stresová odpověď