

# ABSTRAKT

**Univerzita Karlova v Praze**

**Farmaceutická fakulta v Hradci Králové**

**Katedra biologických a lékařských věd**

**Studijní obor:** Zdravotní laborant

**Autor:** Pavlína Holmanová

**Školitel:** RNDr. Klára Konečná, Ph.D.

**Název bakalářské práce:** Přehled metodických přístupů vedoucích ke kvalitativnímu a kvantitativnímu hodnocení mikrobiálních biofilmů

**Cíl práce:** Cílem této práce bylo zpracovat přehled metodických přístupů vedoucích ke kvalitativnímu a kvantitativnímu hodnocení mikrobiálních biofilmů. Dále pak provést optimalizaci metodiky vedoucí k přípravě preparátů s biofilm-formujícími mikroorganismy hodnocenými prostřednictvím epifluorescenční, případně konfokální laserové skenovací mikroskopie.

**Metody:** Optimalizace metodiky barvení mikrobiálních biofilmů pro následné hodnocení epifluorescenční mikroskopii. Formování mikrobiálních biofilmů – kultivace mikroorganismů v různých kultivačních mediích v mikrotitrační destičce, příprava roztoků s fluorescenčními barvivy. Pozorování barevných dispergovaných biofilmů fluorescenčním mikroskopem.

**Výsledky:** Pomocí fluorescenční mikroskopie byly ověřeny optimální cílové koncentrace fluorescenčních barviv v různých kombinacích. Pro určení viability mikrobiálních buněk formujících biofilm se osvědčila kombinace barviv Syto 9 (SYTO™ 9 Green Fluorescent Nucleic Acid Stain) a propidium jodidu. Pro detekci biofilm-formujících kvasinek a biofilmové cukernaté matrice se osvědčila kombinace barev fluorescein-isothiokyanátu (FITC) konjugovaného ke konkavalinu A (ConA), (FITC-ConA) spolu s kalkofluorovou bělobou. Pro studium bakteriálních biofilmů pomocí mikroskopie se osvědčila kombinace barev FITC-ConA spolu s Hoechst 33342.

**Závěry:** V rámci teoretické části této práce byl zpracován stručný přehled metodických přístupů využívaných ke studiu mikrobiálních biofilmů. V experimentální části jsou popsány metodické úkony, které vedly k úspěšnému pořízení snímků z fluorescenční mikroskopie prokazující přítomnost mikrobiálních biofilmů.

**Klíčová slova:** mikrobiální biofilm, biofilm-formující mikroorganismy, kvantifikace adherujících mikrobů, kvantifikace biofilmové matrice