

ABSTRAKT

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Studijní obor: Farmacie

Kandidát: Jana Roubalová

Konzultant: RNDr. Klára Konečná, Ph.D.

Název diplomové práce: Optimalizace metodiky vedoucí k hodnocení citlivosti biofilm formujících mikrobiálních agens vůči látkám s antimikrobním potenciálem

Cíl práce: Cílem této diplomové práce bylo optimalizovat metodický přístup formování kvasinkových biofilmů *in vitro* na tzv. kolíčcích a na stěnách jamek 96 jamkového panelu. Tento systém formování biofilmů by měl být analogickým přístupem ke komerčně dostupnému systému *Calgary Biofilm Device*. Pro optimalizaci metodiky bylo použito 10 kmenů kvasinek rodu *Candida* a 4 různá kultivační média (nutričně chudá/bohatá). Mezi testovanými kvasinkovými kmeny byly jak kmeny referenční, tak klinické izoláty.

Metody: Schopnost formace kvasinkových biofilmů různých kmenů v různých kultivačních médiích byla hodnocena přístupem fixace, barvení formovaných biofilmů pomocí krystalové violeti a následné extrakce a spektrofotometrického proměření intenzity extrahované barvy.

Výsledky: Jednotlivé kmeny byly po kultivaci v různých médiích zařazeny do kategorií dle schopnosti tvořit biofilm. V jamkách obecně docházelo k silnější adhezenci kvasinek než-li na kolíčcích, kam kvasinky adherovaly velmi slabě nebo vůbec. U většiny kmenů *Candida albicans* docházelo ke zvýšené produkci biofilmů v médiích obsahující fetální bovinní sérum, tedy v médiích MGM10 a RPMI. V případě kmene *Candida tropicalis* však docházelo ve srovnání s médiem RPMI k více jak desetinásobně vyšší adhezenci na dno a stěny jamek destičky v médiu Soyabean, tedy bez přítomnosti FBS.

Závěry: U námi studovaných kvasinkových kmenů nebyla prokázána schopnost adherovat na polypropylenové kolíčky. Fetální bovinní sérum na základě statistického hodnocení prokazatelně podporovalo růst a formaci biofilmů u většiny kmenů kvasinek *Candida albicans* v jamkách mikrotitračních destiček. Testovaný kmen kvasinky *Candida tropicalis* se v médiu Soyabean projevil jako silný producent biofilmu a bude využit k další optimalizaci metodiky.

Klíčová slova: biofilm, *in vitro* testování citlivosti mikroorganismů, fyziologie biofilmů, *quorum sensing* fenomén