

Raport odnosi się do komór laminarnych BIOTECTUM o szerokości roboczej 1200, 1500 oraz 1800 mm. W raporcie komory posiadają roboczą nazwę „DELTA” obecnie zastąpioną na „TecPRO”

3. Ocena przydatności komory do badań mikrobiologicznych

3a Przygotowywanie hodowli drobnoustrojów

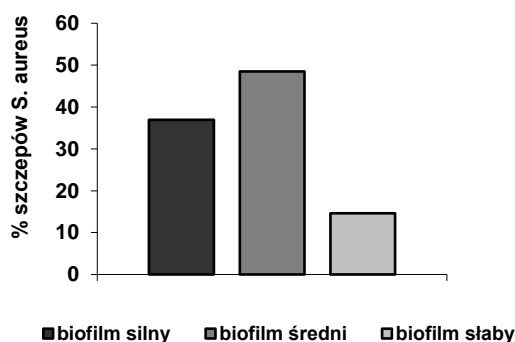
Kolejnym potwierdzeniem skutecznego działania lamp UV oraz filtrów powietrza były hodowle drobnoustrojów przygotowywane w badanych komorach laminarnych, które zachowywały cechy czystych kultur (Fot. 9).



Fot. 9. Posiew redukcyjny szczepu *S. aureus* na podłożu stałym LB.

3b Badanie biofilmu bakteryjnego

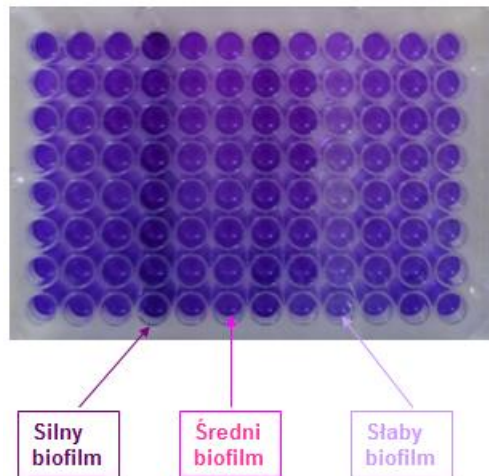
W ramach oceny przydatności komór laminarnych do badań mikrobiologicznych wykonano badania właściwości adhezyjnych szczepów *Staphylococcus aureus* z użyciem jałowych 96-dółkowych mikropłytek o pojemności 200 μ l. Oceniono 130 szczepów *S. aureus*, które pochodziły z materiału klinicznego od ludzi. Około 37% szczepów tworzyło biofilm silny, ponad 48% adherowało w stopniu średnim, a około 15% w stopniu słabym (Ryc. 1, Fot.10, 11). Wszystkie czynności związane z nanoszeniem pożywek, zawiesin bakteryjnych do studzienek płytek titracyjnych, usuwanie niezwiązanych komórek bakteryjnych z polistyrenem, wykonywano w badanych komorach laminarnych.



Ryc.1. Zróżnicowanie właściwości adhezyjne szczepów *Staphylococcus aureus*.

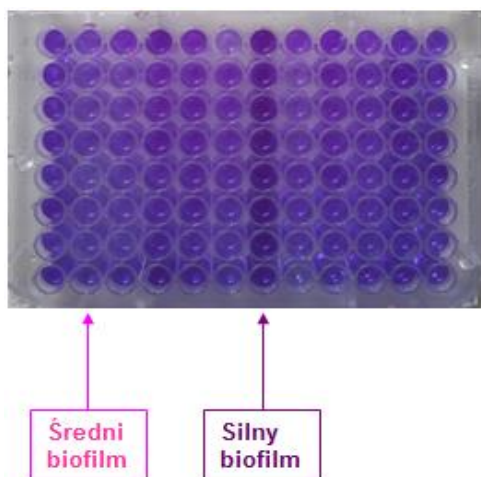
Wnioski:

Uzyskane wyniki były wiarygodne i powtarzalne; nie stwierdzono przypadkowego zanieczyszczenia hodowli *S. aureus* podczas wykonywanych czynności. Wyniki przeprowadzonego eksperymentu świadczą o przydatności testowanych komór laminarnych do zakładania i prowadzenia hodowli *in vitro* szczepów bakteryjnych, a wieloetapowy eksperyment był doskonale zabezpieczony przed przypadkowym zanieczyszczeniem czystych hodowli bakteryjnych prowadzonych w mikrostudzienkach płytki titracyjnej.



Fot.10. Płytki titracyjne z zabarwionym fioletem krystalicznym biofilmem utworzonym przez różne szczepy *S. aureus*. Ocenę tworzenia biofilmu przez każdy szczep wykonano w 8 powtórzeniach. Brak zanieczyszczeń mikrobiologicznych wskazuje na przydatność badanych komór laminarnych do badań mikrobiologicznych.

Fot. 11. Przykładowe płytki titracyjne z utworzonym i zabarwionym fioletem krystalicznym biofilmem *S. aureus*



3b Ocena przeciwbakteryjnej aktywności związków pochodzenia roślinnego w stosunku do biofilmu *S. aureus*.

Przydatność komór laminarnych do badań mikrobiologicznych została także oceniona podczas badania aktywności aldehydu cynamonowego i olejku tymiankowego w stosunku do biofilmu *S. aureus*. Aktywność tych fitozwiązków w stosunku do biofilmu *S. aureus* oceniono w oparciu o dwa wskaźniki, tj. zdolność redukcji biomasy biofilmu oraz zdolność redukcji aktywności metabolicznej komórek w biofilmie. Badanie przeprowadzono zgodnie z metodą podaną wcześniej. Uzyskane wyniki przedstawiono w Tabeli 10 i 11 oraz na Fot. 12. W zależności od szczepu, 0.1% olejek tymolowy po 48-godzinnym działaniu redukował biomasę biofilmu od 59.7% do 85%, a aldehyd cynamonowy od 52.9% do 82.4%. Redukcja aktywności metabolicznej biofilmu wynosiła w przypadku olejku tymolowego od 85.9% do 88.7%, natomiast aldehyd cynamonowy redukował aktywność metaboliczną biofilmu w zakresie 79.3% do 86%. Przeprowadzone badania wykazały, że oceniane fitozwiązki mogą być użyte jako potencjalne czynniki terapeutyczne do eliminacji infekcji związanych z biofilmem *S. aureus*.

Wnioski:

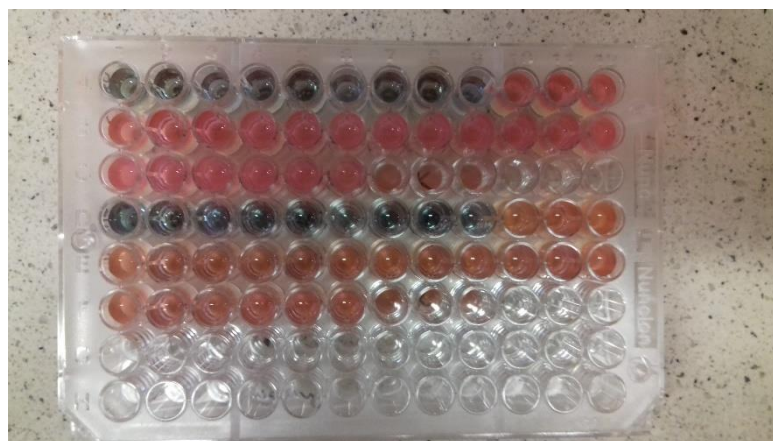
Wyniki uzyskane w ramach przeprowadzonych badań dotyczących poszukiwania związków eradykujących i inaktywujących biofilm bakteryjny, jednoznacznie wykazały przydatność testowanych komór, które zapewniały warunki sterylne.

Tab.10. Redukcja biomasy biofilmu utworzonego przez szczepy *S. aureus* pod wpływem działania aldehydu cynamonowego i olejku tymiankowego w ciągu 24 i 48 godzin.

Fitozwiązek	Redukcja biomasy biofilmu (%)				
	Numer szczepu				
	1	2	3	4	5
24 h					
aldehyd cynamonowy	41.6±5.2	23.8±4.3	63.7±4.8	72.3±1.2	28.4±3.7
olejek tymiankowy	67.0±3.9	45±1.3	35.8±2.7	32.6±1.6	62.1±3.2
48 h					
aldehyd cynamonowy	68.8±1.4	64.3±5.2	80.6±6.5	82.4±7.8	52.9±1.4
olejek tymiankowy	85.0±1.3	59.7±0.1	81.4±4.4	80.1±0.2	67.1±0.1

Tab.11. Redukcja aktywności metabolicznej komórek *S. aureus* w biofilme pod wpływem działania aldehydu cynamonowego i olejku tymiankowego w ciągu 24 i 48 godzin.

Fitozwiązek	Redukcja aktywności metabolicznej biofilmu (%)				
	Numer szczepu				
	1	2	3	4	5
24 h					
aldehyd cynamonowy	79.3±1.6	85.5±1.2	82.8±1.4	76.7±0.8	79.1±0.2
olejek tymiankowy	81.4±2.4	85.5±0.5	85.0±0.6	81.7±0.2	85.7±0.4
48 h					
aldehyd cynamonowy	81.9±1.0	86.0±0.1	82.5±1.1	81.3±1.2	79.3±0.6
olejek tymiankowy	85.9±0.1	88.7±0.1	87.8±0.1	86.0±0.4	87.5±0.2



Fot.12. Wpływ aldehydu cynamonowego na aktywność metaboliczną biofilmu *S. aureus* utworzonego w studzienkach płytki titracyjnej. Wskaźnikiem aktywności metabolicznej bakterii (zabarwienie różowe w studzienkach) był 0,01% roztwór wodny rezazuryny; zabarwienie niebiesko-granatowe świadczyło o całkowitym zahamowaniu wzrostu bakterii.