



VI SESJA MŁODYCH MIKROBIOLOGÓW ŚRODOWISKA ŁÓDZKIEGO

KSIĄŻKA ABSTRAKTÓW

16 czerwca 2023 roku

Wydział Farmaceutyczny ul. Muszyńskiego 1, 90-151 Łódź, sala 4a

UNIWERSYTET MEDYCZNY W ŁODZI

Organizator konferencji

Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej i Diagnostyki Mikrobiologicznej,
Wydział Farmaceutyczny Uniwersytetu Medycznego w Łodzi,
ul. Muszyńskiego 1, 90-151 Łódź

Oddział Łódzki Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów

Wykład inauguracyjny

dr hab. inż. Justyna Szulc,
Katedra Biotechnologii Środowiskowej Politechniki Łódzkiej,
„Zastosowanie metod *omicznych* w analizie mikrobiologicznej i toksykologicznej próbek środowiskowych”

Przewodnicząca Komitetu Naukowego i Organizacyjnego

dr hab. n. med. Monika Sienkiewicz, prof. UM

Komitet Naukowy

prof. dr hab. inż. Beata Gutarowska
prof. dr hab. inż. Katarzyna Śliżewska
dr hab. n. med. Michał Karbownik, prof. UM
dr hab. n. biol. Beata Sadowska, prof. UŁ
dr hab. n. biol. Mirosława Słaba, prof. UŁ
dr hab. n. biol. Agnieszka Torzewska, prof. UŁ
dr hab. n. biol. Dominika Drzewiecka
dr hab. n. farm. Ewa Kochan
dr hab. n. med. Dorota Pastuszek-Lewandoska
dr hab. inż. Justyna Szulc

Komitet Organizacyjny

dr n. farm. Bożena Dudkiewicz
dr n. farm. Magdalena Grażul
dr n. biol. Anna Lichota
dr n. farm. Paweł Lisiecki
dr n. med. Monika Łysakowska
dr n. med. Kamila Olszowiec
dr n. farm. Magdalena Szemraj
mgr Aleksandra Kalmus
mgr Joanna Rosiewicz

Finansowanie

prof. dr hab. n. med. Anna Kilanowicz-Sapota
Dziekan Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Patronat honorowy

JM Rektor Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
JM Rektor Uniwersytetu Łódzkiego
JM Rektor Politechniki Łódzkiej
Polskie Towarzystwo Mikrobiologów
Polskie Towarzystwo Aromaterapeutyczne

Patronat wspierający

Avicenna Oil
Klub Uczelniany AZS Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Redakcja

dr hab. n. med. Monika Sienkiewicz, prof. UM
dr n. biol. Anna Lichota
mgr Aleksandra Kalmus

PATRONATY



UNIwersYTET
MEDYCZNY
W ŁODZI



UNIwersYTET
ŁÓDZKI



Politechnika Łódzka



POLSKIE TOWARZYSTWO MIKROBIOLOGÓW

POLSKIE
TOWARZYSTWO
AROMATERAPEUTYCZNE



AVICENNA OIL

SINCE 1993



KLUB UCZELNIANY AZS
UNIwersYTETU MEDYCZNEGO
W ŁODZI

Szanowni Państwo,

jest nam niezmiernie miło powitać Państwa na VI Sesji Młodych Mikrobiologów Środowiska Łódzkiego. Jest to konferencja cykliczna organizowana przez łódzkie uczelnie wyższe, odbywająca się od 2017 roku z inicjatywy Łódzkiego Oddziału Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów.

W tym roku organizatorem konferencji jest Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej i Diagnostyki Mikrobiologicznej Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego. Patronami sesji są JM Rektorzy Uniwersytetu Medycznego, Uniwersytetu Łódzkiego, Politechniki Łódzkiej, a także Polskie Towarzystwo Mikrobiologów, Polskie Towarzystwo Aromaterapeutyczne, Avicenna Oil oraz Klub Uczelniany AZS Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

Wierzymy, że Sesja Młodych Mikrobiologów pozwoli na owocną wymianę doświadczeń młodych mikrobiologów łódzkich uczelni wyższych i placówek naukowo-badawczych, co przyniesie niewymierne korzyści dla nauki. W czasie konferencji poznamy wyniki badań uczestników jako doniesienia ustne w dwóch sesjach mikrobiologia medyczna i mikrobiologia przemysłowa lub jako prezentacje plakatów w trzech sesjach tematycznych: mikrobiologia medyczna, mikrobiologia przemysłowa oraz mikrobiologia ogólna i środowiskowa.

Mamy nadzieję, że wydarzenie pozwoli na integrację środowiska młodych naukowców i wytyczy dalsze kierunki aktywności naukowo-badawczej, co wpłynie na rozwój mikrobiologii w różnych aspektach życia i działalności człowieka.



.....
Przewodnicząca Komitetu Naukowego i Organizacyjnego
dr hab. n. med. Monika Sienkiewicz, prof. UM

PROGRAM KONFERENCJI

VI SESJA MŁODYCH MIKROBIOLOGÓW ŚRODOWISKA ŁÓDZKIEGO

- 8:30–9:00** Rejestracja uczestników
- 9:00–9:15** Otwarcie konferencji
- 9:15–10:00** **Wykład inauguracyjny**
dr hab. inż. Justyna Szulc
Katedra Biotechnologii Środowiskowej Politechniki Łódzkiej
„Zastosowanie metod *omicznych* w analizie mikrobiologicznej i toksykologicznej próbek środowiskowych”
- 10:00–10:10** mgr inż. Aldona Radoszewska
Polskie Towarzystwo Aromaterapeutyczne i kwartalnik Aromaterapia
- 10:10–10:20** mgr Renata Kraszewska
Avicenna Oil
- Sesja: mikrobiologia medyczna**
Przewodniczący: dr hab. n. med. Michał Karbownik, prof. UM
- 10:30–10:45** Jakub Skibiński, Przemysław Płociński, Yaroslav Lavrynychuk, Magdalena Chmiela
„Poszukiwanie inhibitorów hamujących aktywność degradosomu *Helicobacter pylori* jako perspektywa odkrycia potencjalnych antybiotyków w dobie narastającej lekooporności”
- 10:45–11:00** Aleksandra Bortniczuk, Wiktoria Bielecka, Beata Sadowska
„Skuteczność bakteriobójcza płynów do płukania jamy ustnej”
- 11:00–11:15** Weronika Gonciarz, Weronika Orłowska, Marek Brzeziński, Artur Lewandowski, Paweł Wawrzyniak, Magdalena Chmiela
„Opracowanie nośnika chitozanowego zawierającego prątki *Mycobacterium bovis* BCG do wspomagania zwalczania zakażenia *Helicobacter pylori*”
- 11:15–11:30** Filip Bielec, Stanisław Klimaszewski, Dorota Pastuszek-Lewandoska
„Różnorodność mikrobiologiczna dróg moczowych zdrowych młodych mężczyzn – wstępne wyniki”
- 11:30–11:45** Maria Dobielska, Natalia Karina Bartosik, Michał Seweryn Karbownik
„Ocena powiązania między spożyciem żywności fermentowanej a jakością snu w warunkach stresu psychicznego: prospektywne badanie kohortowe”
- 11:45–12:00** Przemysław Dziadowicz, Dominik Żyro, Joanna Sikora
„Synteza nowych związków koordynacyjnych ketokonazolu z solami srebra(I) oraz ocena ich właściwości przeciwdrobnoustrojowych”
- 12:00–12:15** Magdalena Grędysa, Aleksandra Chruścicka, Paulina Glajzner, Magdalena Szemraj, Monika Sienkiewicz
„Identyfikacja genetyczna oraz wykrywanie genów oporności na makrolidy, linkozamidy i streptograminy B u gronkowców koagulazoujemnych izolowanych z materiałów klinicznych”

- 12:15-12:30** Przerwa kawowa
- 12:30-14:00** Sesja plakatowa
- Sesja: mikrobiologia przemysłowa**
Przewodnicząca: prof. dr hab. inż. Katarzyna Ślizewska
- 14:00-14:15** Patrycja Rowińska, Magdalena Efenberger-Szmechtyk
„Wpływ bakteriofagów na jakość mikrobiologiczną mięsa”
- 14:15-14:30** Katarzyna Miśkiewicz, Dorota Gendaszewska, Beata Gutarowska
„Zastosowanie grzybni grzybów wyższych do budowy lekkich materiałów izolacyjnych”
- 14:30-14:45** Dominika Górniewicz, Dorota Kręgiel
„Zastosowanie drożdży *Yarrowia lipolytica* w rewaloryzacji produktów ubocznych przemysłu spożywczego”
- 14:45-15:00** Paweł Marcinkowski, Agnieszka J. Pietrzyk-Brzezinska, Małgorzata Ryngajłto
„Poszukiwanie homologów strukturalnych białek wiążących c-di-GMP wśród proteomów bakterii z rodzaju *Komagataeibacter*”
- 15:00-15:15** Dominika Gibka, Aleksandra Stegliška, Beata Gutarowska
„Ekologiczny biopreparat do ochrony ziemniaka sadzeniaka przed fitopatogenami”
- 15:15-15:30** Artur Kołtuniak, Justyna Szulc, Beata Gutarowska
„Czynniki wpływające na przetrwalnikowanie środowiskowych izolatów bakterii z rodzaju *Bacillus* sp.”
- 15:30-15:45** Barbara Płacheta, Ilona Motyl, Joanna Bertowska
„Zagospodarowanie kukurydzy i łubinu na cele paszowe”
- 16:00** Zakończenie konferencji
Wręczenie nagród za najlepsze wystąpienia ustne i plakatowe

Streszczenie wykładu inauguracyjnego

Zastosowanie metod *omicznych* w analizie mikrobiologicznej i toksykologicznej próbek środowiskowych

Justyna Szulc¹, Beata Gutarowska¹, Tomasz Ruman²

¹Katedra Biotechnologii Środowiskowej, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechnika Łódzka

²Wydział Chemiczny, Politechnika Rzeszowska im. Ignacego Łukasiewicza

Coraz częściej w badaniach naukowych wykorzystuje się techniki omiczne (ang. „-omics”) należące do metod biologii i chemii systemowej (systeomiki, biomiki). Wśród nich wyróżniamy: genomikę, transkryptomikę, proteomikę, metabolomikę, które w połączeniu z zaawansowanymi narzędziami bioinformatycznymi, umożliwiające rozległą analizę dużych ilości danych. Metody te są stosunkowo szeroko wykorzystywane w badaniach medycznych, a w ostatnich latach zaczęto adaptować je do analiz próbek środowiskowych.

W Katedrze Biotechnologii Środowiskowej PŁ we współpracy z Wydziałem Chemicznym PRz, prowadzono w ostatnich latach badania metagenomowe (wysokoprzepustowe sekwencjonowanie na platformie Illumina MiSeq) oraz metabolomowe (metody laserowej spektrometrii mas – 109AgNPs, AgNPs i AuNPs SALDI-ToF-MS odpowiednio: spektrometria mas wspomagana powierzchniowo desorpcją laserową/jonizacja wykorzystująca monoizotopowe srebro lub nanocząstki srebra i złota z analizatorem czasu przelotu oraz LARESI MSI - obrazowanie spektrometrią mas ze zdalną laserową jonizacją ablacją i elektrorozpyleniem). Metody te wykorzystano do analiz mikrobiologicznych i toksykologicznych obiektów zabytkowych (papier, fotografie, jedwab, pieczęcie), materiałów budowlanych (płyta kartonowo-gipsowa), materiałów roślinnych (ziarno orkisz), pyłu osiadłego ze stanowisk pracy w oczyszczalni ścieków oraz próbek gleby i odcieków z nielegalnych składowisk odpadów.

W badaniach tych wykazano, że wysokoprzepustowe sekwencjonowanie oraz techniki laserowej spektrometrii mas są odpowiednimi narzędziami do oceny mechanizmów biodeterioracji i zagrożenia toksykologicznego materiałów technicznych dostarczając informacji na temat rodzajów mikroorganizmów, ich pierwotnych i wtórnych metabolitów (w tym mikotoksyn) oraz związków pochodzących z rozkładu materiałów.

Ponadto metody laserowej spektrometrii mas – 109AgNPs, AgNPs i AuNPs SALDI-ToF-MS oraz LARESI MSI mogą być stosowane w identyfikacji oraz ocenie rozkładu przestrzennego metabolitów pochodzenia mikrobiologicznego na materiałach technicznych i roślinnych.

STRESZCZENIA

MIKROBIOLOGIA MEDYCZNA

Poszukiwanie inhibitorów hamujących aktywność degradosomu *Helicobacter pylori* jako perspektywa odkrycia potencjalnych antybiotyków w dobie narastającej lekooporności

Jakub Skibiński^{1,2}, Przemysław Płociński², Yaroslav Lavrynychuk^{1,2}, Magdalena Chmiela²

1) Szkoła Doktorska BioMedChem UŁ i Instytutów PAN w Łodzi, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

2) Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

Wstęp: Zakażenie pałeczką *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) jest diagnozowane u ok. 50% światowej ludności. Szacunkowo u 20% zakażonych dochodzi do rozwoju zapalenia błony śluzowej żołądka, choroby wrzodowej żołądka lub wrzodów dwunastnicy. W następstwie przewlekłego zakażenia może dojść do rozwoju raka żołądka, w wyniku którego umiera rocznie ok. 1mln osób. W ciągu ostatnich 10 lat obserwuje się wzrost lekoopornych szczepów *H. pylori*, uniemożliwiając skuteczną terapię. W związku z tym, należy poszukiwać alternatywnych substancji chemicznych w celu zwalczania tych zakażeń. Jednym z rozwiązań, jest poszukiwanie nowych tarcz molekularnych tzw. wrażliwych miejsc metabolizmu *H. pylori*. Kluczowe dla przeżycia i namnażania bakterii są procesy degradacji i metabolizmu RNA, które pozostają słabo scharakteryzowane a stanowią potencjalne miejsca ingerencji nowych leków przeciwbakteryjnych. Białko fosforylaza polinukleotydowa (PNP) jest podstawowym komponentem białkowego kompleksu degradującego RNA u innych bakterii, którego zahamowanie aktywności poprzez substancje chemiczne, może prowadzić do atenuacji lub śmierci drobnoustroju, stanowiąc alternatywny lek o charakterze antydnoustrojowym. Dane literaturowe [NCBI] sugerują, że białko PNP u *H. pylori* (PNPHpy) może być niezbędne do przeżywania tej bakterii.

Cel pracy: Zbadanie aktywności białka PNPHpy oraz screening komercyjnie dostępnej biblioteki 10 tys. związków aktywnych chemicznych, w celu odnalezienia potencjalnych inhibitora/ów białka PNPHpy w opracowanym teście enzymatycznym.

Materiały i metody: Białko rekombinowane PNPHpy wyprodukowano w systemie ekspresyjnym *E. coli* BL21 a następnie oczyszczano za pomocą kolumny metalopowinowactwa, oraz metodami chromatograficznymi AKTA GO (chromatografia jonowymienna, filtracja żelowa). Aktywny preparat białkowy PNPHpy o potwierdzonej aktywności poliadenylacyjnej ssDNA wykorzystywano w testach enzymatycznych z wykorzystaniem Tioflawiny T.

Wyniki: Dotychczasowy screening pozwolił na wyodrębnienie ok. 20 potencjalnych inhibitorów białka PNP

Wnioski: Wybrane potencjalne inhibitory należy poddać dalszym analizom tj. wpływ inhibitorów na ludzkie białko PNP; określenie cytotoksyczności względem komórek eukariotycznych i/lub modyfikacje strukturalne związków.

Sfinansowano przez NCN: projekt nr 2019/34/E/NZ1/00338 -SONATA BIS 9. Kierownik: dr Przemysław Płociński

Skuteczność bakteriobójcza płynów do płukania jamy ustnej

Aleksandra Bortniczuk¹, Wiktoria Bielecka¹, Beata Sadowska²

¹ Studenckie Koło Naukowe Mikrobiologiczno-Immunologiczne przy Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego

² Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

Według badań wprowadzenie do codziennej higieny płynów do płukania jamy ustnej skutecznie zmniejsza w niej liczbę drobnoustrojów, w tym bakterii chorobotwórczych. Stwierdzono, że aminofluorek (zawarty także w jednym z badanych w prezentowanym doniesieniu preparatów) ogranicza również zmiany próchnicze. Natomiast olejki eteryczne zawarte w zdecydowanej większości preparatów dostępnych na rynku nie wykazują w tym kierunku znaczącego działania [1-2].

Celem badań było sprawdzenie aktywności bakteriobójczej trzech komercyjnych preparatów do płukania jamy ustnej.

Materiały i metody: Badania prowadzono na wybranych szczepach wzorcowych bakterii: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (szczep MRSA) oraz na mieszaninie bakterii izolowanych z jamy ustnej zdrowego ochotnika. W badaniach zastosowano metodę oceny liczny CFU (ang. *colony forming units*) bakterii po ekspozycji na badane preparaty do płukania jamy ustnej. Przygotowano zawiesiny bakterii o gęstości zbliżonej do gęstości drobnoustrojów w jamie ustnej, a następnie mieszano z danym płynem do płukania ust (próby badane) lub PBS (próby kontrolne) przez czas zalecany przez producenta danego płynu. Po odpłukaniu preparatów zawiesiny bakterii rozcieńczano w PBS i wysiewano z określonych rozcieńczeń na odpowiednie podłoża stałe (w zależności od wymagań drobnoustrojów). Po inkubacji liczono CFU, a na podstawie uzyskanych wyników obliczano gęstość bakterii w poszczególnych zawiesinach.

Wyniki i wnioski: Porównanie gęstości prób kontrolnych i badanych pozwoliło na określenie skuteczności bakteriobójczej danego preparatu wobec danego drobnoustroju. Stwierdzono 100% bójczość preparatu nr (2) w stosunku do wszystkich badanych drobnoustrojów. Preparat nr (3) wykazał 100% bójczość w stosunku do *E. faecalis* oraz niemal 100% bójczość (99,99%) w stosunku do *S. aureus* i do drobnoustrojów z wymazu z jamy ustnej. Najslabiej działał natomiast preparat nr (1) wykazując 72,1% bójczość w stosunku do *E. faecalis*, 91,3% w stosunku do *S. aureus* oraz 88,5% w stosunku do drobnoustrojów izolowanych z jamy ustnej. W oparciu o otrzymane wyniki można stwierdzić, że komercyjnie dostępne preparaty do płukania jamy ustnej wykazują wysoką, ale niejednakową skuteczność bakteriobójczą w stosunku do różnych grup drobnoustrojów.

1. A. Herczegh i wsp. (2023). DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e15350
2. C. Pérez-Nicolás i wsp. (2022). DOI: 10.1016/j.aanat.2022.152026

Opracowanie nośnika chitozanowego zawierającego prątki *Mycobacterium bovis* BCG do wspomagania zwalczania zakażenia *Helicobacter pylori*

Weronika Gonciarz¹, Weronika Orłowska¹, Marek Brzeziński², Artur Lewandowski³, Paweł Wawrzyniak³, Magdalena Chmiela¹

¹Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, Banacha 12/16, 90-237 Łódź

²Zespół Polimerów Reaktywnych i Supramolekularnych, Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych Polskiej Akademii Nauk, Sienkiewicza 112, 90-363 Łódź

³Katedra Inżynierii Środowiska, Wydział Inżynierii Procesowej i Ochrony Środowiska, Politechnika Łódzka, Stefana Żeromskiego 116, 90-924 Łódź

Wstęp. Powszechność zakażeń pałeczkami *Helicobacter pylori* (Hp) u ludzi, osłabianie przez te bakterie odpowiedzi odpornościowej gospodarza i ich lekooporność, stanowią przesłankę do poszukiwania formułacji wspomagających leczenie zakażeń Hp. Mukoadhezyjny chitozan (Chtz) jest stosowany w nośnikach leków m.in. mikrocząstkach (MPs), warunkujących ochronę substancji leczniczych oraz ich docelowe, przedłużone uwalnianie. W badaniach Zespołu wykazano, że prątki *Mycobacterium bovis* BCG (onko-BCG, Biomed, Lublin) pobudzają makrofagi do fagocytozy hamowanej przez Hp. Ograniczają także wydzielanie Mucyny 5 śluzu żołądkowego i przez to adhezję Hp do nabłonka. **Cel.** Opracowanie dwóch typów MPs Chtz dostarczających onko-BCG do żołądka, aby po uwolnieniu działały w miejscu kolonizacji Hp oraz do jelita, gdzie indukowane są procesy odpornościowe, wraz z oceną biogodności *in vitro* oraz *in vivo* samych MPs. **Materiały i metody.** MPs otrzymano metodą suszenia rozpyłowego modyfikowanych roztworów Chtz i analizowano fizykochemicznie (DSC, SEM, ¹³C NMR, FT-IR), *in vitro* wykluczano działanie cytotoksyczne (redukcja MTT), genotoksyczne (uszkodzenie DNA), indukcję apoptozy (aktywacja kaspaz) i działanie prozapalne (aktywacja NF-κB). Na modelu kawy domowej (zgoda ŁB 16/234/2022) oceniono biogodność MPs śródskórnie oraz efekty potencjalnej biodystrybucji po podaniu *per os*. Po 24h, 48h i 72h oznaczano skórny odczyn alergiczny, w surowicy i homogenatach wątroby poziom aminotransferaz (test ELISA), surowicze stężenie cytokin prozapalnych (test ELISA) i proliferację limfocytów T (radioaktywny test proliferacji). Zamykano onko-BCG w MPs, oceniano żywotność prątków i kinetykę ich uwalniania. **Wyniki.** Otrzymane MPs są biogodne *in vitro* oraz *in vivo*, i wykazują wysoką ładowność żywych onko-BCG, które są uwalniane w kwaśnym lub zasadowym pH. **Wnioski.** Biogodne MPs z onko-BCG mogą zostać dostarczone i uwolnione *in vivo* w kwaśnym pH żołądka oraz w zasadowym pH, w jelicie i wykazywać, odpowiednio, działanie przeciwadhezyjne lub immunomodulacyjne. Dalsze badania *in vivo*, na modelu eksperymentalnego zakażenia Hp u kawy pozwolą ocenić przydatność MPs Chtz-onko-BCG do eradykacji Hp. **Zgłoszenie patentowe nr P.444927: Sposób otrzymywania biopolimerowego nośnika prątków szczepionkowych *Mycobacterium bovis* BCG do zwalczania zakażenia bakteriami *Helicobacter pylori*.**

Różnorodność mikrobiologiczna dróg moczowych zdrowych młodych mężczyzn – wstępne wyniki

Filip Bielec¹, Stanisław Klimaszewski¹, Dorota Pastuszek-Lewandoska¹

¹Zakład Mikrobiologii i Laboratoryjnej Immunologii Medycznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Zainicjowany w 2007 r. projekt poznania ludzkiego mikrobiomu (ang. *Human Microbiome Project*) nie obejmował badania pęcherza moczowego, moczowodów i nerek, gdyż tradycyjnie uważano, że drogi moczowe człowieka są sterylne, a obecność w nich drobnoustrojów zawsze powoduje chorobę. Doniesienia naukowe z ostatnich lat pokazały, że jest zupełnie inaczej. W moczu zdrowych osób fizjologicznie występują drobnoustroje, określane terminem „urobiota”. Liczba dotychczas przeprowadzonych badań urobioty jest jeszcze ograniczona. Większość z nich skupiała się albo na niewielkich grupach i na ściśle określonej cesze, np. płci (kobiety) lub jednostce chorobowej (nawracające zapalenie układu moczowego). Z badań tych wynika, że urobiota jest mniej liczna i mniej zróżnicowana niż mikrobiota w innych regionach ciała, takich jak np. jelita.

Celem niniejszego projektu naukowego było odkrycie i sklasyfikowanie bakterii naturalnie występujących w drogach moczowych zdrowej polskiej męskiej populacji. Grupa badana składała się z 40 chętnych dorosłych zdrowych mężczyzn, którzy nigdy nie chorowali na zapalenie układu moczowego. Każdy uczestnik wypełnił anonimowy kwestionariusz dotyczący m.in. zdrowia i stylu życia, oraz oddał próbkę moczu z tzw. „środkowego strumienia” do analizy mikrobiologicznej.

Wzrost bakterii zaobserwowano w przypadku 90% zebranych próbek, 10% uczestników oddało sterylne próbki. Liczność bakterii w dodatnich próbkach wynosiła między 10 a 10⁴ CFU/ml, a różnorodność wahała się od 2 do 16 różnych zidentyfikowanych gatunków w próbce. Ogółem najczęściej występującym typem bakterii był Firmicutes, zaś najliczniej występującymi rodzajami: *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Staphylococcus* oraz *Shaalialia*. Zebrane dane pozwoliły na wyodrębnienie 3 wyróżniających się urotypy, w których odpowiednio przeważały rodzaje: *Streptococcus*, *Corynebacterium*, i *Staphylococcus*. Zebrane próbki zostaną jeszcze poddane sekwencjonowaniu nowej generacji (ang. *next-generation sequencing*), co umożliwi dogłębniejszą analizę badanej różnorodności urobioty zdrowych młodych mężczyzn.

Ponadto, ciekawym wynikiem okazało się zidentyfikowanie bakterii *Staphylococcus aureus* w próbkach oddanych przez nosicieli tej bakterii na skrzydełkach nosa – kwestia ta wymaga dalszych badań na większej grupie.

Ocena powiązania między spożyciem żywności fermentowanej a jakością snu w warunkach stresu psychicznego: prospektywne badanie kohortowe.

Maria Dobielska¹, Natalia Karina Bartosik¹, Michał Seweryn Karbownik²

¹Studenckie Koło Naukowe Miłośników Farmakologii, Zakład Farmakologii i Toksykologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Żeligowskiego 7/9, 90-752 Łódź, Polska

²Zakład Farmakologii i Toksykologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Żeligowskiego 7/9, 90-752 Łódź, Polska

Mikrobiota jelitowa, będąca składową osi jelito-mózg, odkrywa rolę w funkcjonowaniu układu nerwowego, a tym samym w utrzymaniu dobrostanu psychicznego człowieka. Żywność fermentowana dostarcza potencjalnie probiotycznych drobnoustrojów, co może przyczyniać się do jakościowych i ilościowych modyfikacji mikrobioty jelitowej. Pozwala to postawić pytanie, czy zmiany te mogą wpływać na funkcjonowanie psychiczne człowieka, w tym na jakość jego snu. Badania kliniczne z wykorzystaniem probiotyków wskazywały, że w grupach poddanych suplementacji odnotowano wyższą jakość i efektywność snu, krótszą latencję snu oraz niższą liczbę nocnych przebudzeń w porównaniu do grup kontrolnych. Jednak z drugiej strony żywność fermentowana, w przeciwieństwie do wystandaryzowanych preparatów probiotycznych, może zawierać drobnoustroje chorobotwórcze lub ich niekorzystne dla zdrowia metabolity. Zatem jej konsumpcja może mieć także negatywny wpływ na stan zdrowia i sen.

Celem badania była ocena, czy spożywanie żywności fermentowanej jest powiązane z jakością snu w populacji studentów medycyny w warunkach stresu psychicznego wywołanego nadchodzącym egzaminem przedmiotowym.

Przeprowadzono prospektywne badanie kohortowe, w ramach którego uczestnicy raportowali spożyte przez siebie pokarmy i napoje przez trzy dni poprzedzające egzamin. Raporty składali za pośrednictwem autorskiego, bogato ilustrowanego internetowego formularza, który służył zebraniu danych o ilości spożytych produktów fermentowanych. Do oceny jakości snu w tygodniu poprzedzającym egzamin wykorzystano Kwestionariusz Jakości Snu Pittsburgh (PSQI) zaadaptowany tak, aby odnosił się do minionego tygodnia.

W skład grupy badanej wchodziło 244 studentek i studentów trzeciego roku kierunku lekarskiego, o średnim wieku $22,6 \pm 1,3$ lat. 146 z nich (59,8%) stanowiły kobiety.

Wśród uczestników wyodrębniono dwie grupy. Pierwszą stanowiło 204 studentów, którzy zanegowali postawienie przez lekarza diagnozy choroby lub zaburzenia psychicznego oraz przyjmowanie leków psychotropowych (zdrowi). Do drugiej grupy, o liczebności 40 osób, włączono osoby, które nie spełniły co najmniej jednego z tych warunków (zaburzenia psychiczne). Analiza statystyczna wykazała, że studenci z drugiej grupy charakteryzowali się niższą jakością snu (PSQI *total score* $7,1 \pm 3,0$) w porównaniu do studentów nie deklarujących zaburzeń psychicznych (PSQI *total score* $5,3 \pm 2,6$) (wyższy wynik PSQI oznacza gorszą jakość snu; $p=0,0002$). Studenci spożywali przeciętnie 95 gramów produktów fermentowanych dziennie, z czego największą część stanowiły fermentowane napoje mleczne w ilości 56 gramów dziennie. W oparciu o ilość spożywanych produktów fermentowanych uczestników podzielono na tercyle i, za pomocą analizy kowariancji, testowano różnice w jakości snu między tercylami po skorygowaniu o potencjalne zmienne zakłócające (płeć, czynniki socjodemograficzne, cechy osobowości, wskaźnik BMI, stosowanie produktów nikotynowych, choroby przewlekłe, ogólna jakość diety, aktywność fizyczna i występowanie zaburzeń psychicznych). Wykazano istotne różnice między tercylami ($p=0,0047$), które kształtowały się tak samo w grupie osób zdrowych psychicznie jak i u tych drugich (nieistotny efekt interakcji, $p=0,56$). Przy użyciu analizy kontrastów zweryfikowano, że w całej grupie studentów trend liniowy zależności okazał się nieistotny statystycznie ($p=0,32$), natomiast trend nieliniowy był istotny ($p=0,0017$): studenci znajdujący się w drugim tercylu prezentowali niższe wartości PSQI *total score* ($4,8 \pm 2,7$) niż ci w pierwszym i trzecim tercylu ($6,0 \pm 2,6$), zatem ich jakość snu była wyższa.

Badanie sugeruje, że w warunkach stresu psychicznego zależność między spożywaniem żywności fermentowanej a jakością snu ma charakter odwróconej litery "U": najwyższą jakość snu prezentują ci studenci, którzy spożywają pośrednią ilość produktów fermentowanych. Przyczyny opisywanego zjawiska można doszukiwać się w tym, że w powyższej grupie "dawka" mikroorganizmów jest już wystarczająca, by wywołać efekt kliniczny, ale jeszcze nie na tyle duża, by prowadzić do wystąpienia działań niepożądanych.

Synteza nowych związków koordynacyjnych ketokonazolu z solami srebra(I) oraz ocena ich właściwości przeciwdrobnoustrojowych.

Przemysław Dziadowicz, Dominik Żyro, Joanna Sikora

Zakład Chemii Bionieorganicznej, Katedra Chemii Medycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

WSTĘP: Właściwości przeciwdrobnoustrojowe srebra oraz jego związków znane są ludzkości już od czasów starożytnych. Zwiększający się problem oporności na antybiotyki oraz leki przeciwgrzybicze spowodował, że wrócono do dobrze znanych od lat form terapii, w tym między innymi z wykorzystaniem jonów srebra(I), które są bezpośrednio odpowiedzialne za mechanizm działania. Rozwój medycyny oraz chemii koordynacyjnej spowodowały odkrycie nowych związków kompleksowych srebra z heterocyklicznymi ligandami, w tym pochodnymi azolu takimi jak metronidazol, czy mikonazol. W swojej pracy jako temat badań wybrałem kolejną z pochodnych: ketokonazol (KTZ).

CEL PRACY: Opracowanie oraz walidacja metody syntezy nowych związków koordynacyjnych ketokonazolu z solami srebra(I), ustalenie ich podstawowych właściwości fizycznych oraz aktywności przeciwdrobnoustrojowej w kierunku grzybów z rodzaju *Candida spp.* oraz bakterii gramdodatnich i gramujemnych.

WYNIKI: Otrzymano 4 nowe kompleksy ketokonazolu z solami srebra(I): [(KTZ)₂Ag]NO₃, [(KTZ)₂Ag]ClO₄, [(KTZ)₂Ag]CF₃COO oraz [(KTZ)₂Ag]SbF₆, ustalono wydajność poszczególnych reakcji oraz rozpuszczalność związków, ich temperaturę topnienia i rozkładu. Struktura związków została potwierdzona przy użyciu badania ¹H NMR. Wykonane zostało badanie fotostabilności z wykorzystaniem promieni UV-A (λ=365nm) oraz rozproszonego światła słonecznego w odniesieniu do przechowywania próbek w temperaturze pokojowej bez dostępu do światła oraz w temperaturze 4-8°C. Ustalono wartości MIC oraz MBC/MFC dla wybranych szczepów grzybów: *C. albicans* oraz *C. glabrata*, bakterii gramujemnych: *E. coli*, *P.aeruginosa*, *K. pneumoniae* i gramdodatnich: *S. aureus*.

WNIOSKI: Otrzymane związki wykazują synergizm w porównaniu do wolnego ketokonazolu oraz użytych soli srebra.

Przeprowadzone badania sfinansowane ze środków otrzymanych w ramach grantu naukowego „Grantu UMEDu” edycja 2022/2023 numer 564/3-000-00/564-20-058.

Identyfikacja genetyczna oraz wykrywanie genów oporności na makrolidy, linkozamidy i streptograminy B u gronkowców koagulazoujemnych izolowanych z materiałów klinicznych

Magdalena Grędyś, Aleksandra Chruścicka, Paulina Głajzner, Magdalena Szemraj, Monika Sienkiewicz

Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej i Diagnostyki Mikrobiologicznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Gronkowce koagulazoujemne (CoNS) wchodzą w skład mikrobiomu skóry. Jednak w ostatnim czasie wzrasta liczba infekcji powodowanych przez te bakterie. Do gatunków najczęściej izolowanych z posiewów krwi oprócz *S. epidermidis* można zaliczyć *S. haemolyticus* i *S. hominis*. Charakteryzują się one wielolekoopornością i jednocześnie stanowią rezerwuar genów oporności dla bardziej chorobotwórczych bakterii. Przy tym zjawisku uwagę zwraca oporność typu MLS_B (krzyżowa oporność na makrolidy, linkosamidy i streptograminy B).

Celem pracy było potwierdzenie identyfikacji metodą genetyczną u 62 szczepów gronkowców, zidentyfikowanych wcześniej metodą MALDI-TOF jako *S. hominis*. Co więcej oznaczano u tych bakterii oporność na antybiotyki z grupy MLS_B i poszukiwano genów odpowiedzialnych za ten mechanizm.

Do identyfikacji genetycznej wykorzystano metodę PCR z użyciem starterów specyficznych dla poszczególnych gatunków. Za pomocą PCR poszukiwano także genów oporności odpowiedzialnych za mechanizm MLS_B: *ermA*, *ermB*, *ermC*; kodujących oporność na: makrolidy *ereA*, *ereB*, *msrA*, *msrB*, *mphC*, linkozamidy: *lnuA* i streptograminy B: *vatA*, *vatB*, *vatC*, *vga*, *vgb*. Wrażliwość na antybiotyki z grupy MLS_B (erytromycyna, klarytromycyna, spiromycyna, klindamycyna, linkomycyna, chinupristyna-daflopristyna) określono metodą dyfuzyjno – krążkową.

Z 62 badanych szczepów 87% zostało zidentyfikowanych jako *S. hominis*. Dwa szczepy należały do podgatunku *S. hominis* subsp. *novobiosepticus*, pozostałe do podgatunku *S. hominis* subsp. *hominis*. Fenotyp konstytutywny MLS_B wykazało 58,82% badanych szczepów, natomiast fenotyp indukcyjny 41,18%. Najczęściej występującym genem, który determinuje oporność krzyżową na antybiotyki MLS_B okazał się *ermC* (72,58%). Dużą częstością występowania charakteryzowały się także geny *msrB* (58,06%) oraz *mphC* (45,16%). Aż 49 szczepów posiadało co najmniej 4 geny.

Makrolidy i linkozamidy mogą być stosowane w leczeniu zakażeń powodowanych przez metacylionooporne gronkowce. Jednak otrzymane wyniki pokazały, że oporność na te antybiotyki jest powszechna i stosowanie ich może być ograniczone. Co więcej niepokojąca wydaje się obecność tak dużej liczby genów u pojedynczych szczepów.

Wpływ kwasu mlekowego wytwarzanego przez szczepy *Lactobacillus* na aktywność ureazyDominika Szczerbiec¹, Katarzyna Bednarska-Szczepaniak², Agnieszka Torzewska¹¹Katedra Biologii Bakterii, Instytut Mikrobiologii, Biotechnologii i Immunologii, Uniwersytet Łódzki, Łódź, Polska²Laboratorium Chemii Medycznej, Instytut Biologii Medycznej PAN, Łódź, Polska

Ureaza wytwarzana przez drobnoustroje *Proteus mirabilis* jest kluczowym enzymem w procesie powstawania infekcyjnych kamieni moczowych. Ureaza katalizuje hydrolizę mocznika do CO₂ i NH₃ co podwyższa pH moczu i jest pierwszym etapem w procesie krystalizacji i wytrącania kryształów struwitu i apatytu. Drogi moczowe ludzi są zasiedlane przez drobnoustroje z rodzaju *Lactobacillus*, które mają działanie antagonistyczne wobec patogenów m. in. poprzez wydzielanie kwasów organicznych, co może mieć wpływ na proces powstawania infekcyjnych kamieni moczowych.

Celem pracy było określenie wpływu szczepów *Lactobacillus* (*L. cristapus*, *L. jensenii*, *L. gasseri*) izolowanych z moczu, oraz wytwarzanego przez nie kwasu mlekowego na aktywność ureazy.

Badane szczepy *Lactobacillus* wraz z ureazą z fasoli (*Canavalia ensiformis*) inkubowano w moczu syntetycznym z dodatkiem czerwieni fenolowej, jako wskaźnika stopnia krystalizacji. Kontrolę pozytywną stanowił moczek syntetyczny z ureazą, a negatywną sam moczek syntetyczny. Płytkę inkubowano 6 h w 37 °C a absorbancję w każdej z godzin mierzono przy długości fali 550 nm. W drugim wariancie tego doświadczenia, zamiast szczepów *Lactobacillus*, użyto kwasu mlekowego i przeprowadzono test analogicznie do poprzedniego. Typ inhibicji enzymu określono w badaniach kinetyki enzymu metodą kolorymetryczną, a oddziaływanie kwasu mlekowego z podjednostką katalityczną ureazy metodą dokowania *in silico*. Mocznik w szerokim zakresie stężeń inkubowano z ureazą w obecności lub bez (próba kontrolna) kwasu mlekowego. Stężenia kwasu mlekowego w badaniach typu inhibicji wynosiły IC₂₅, IC₅₀ oraz IC₇₅. Stężenie uwolnionego amoniaku oznaczano metodą fenolowo-podchlorynową. Na podstawie wykresu Lineweavera-Burka określono typ inhibicji a dokowanie *in silico* przeprowadzono w programie Autodoc 4.2.6 dla modelu 3D kwasu L(+) mlekowego i modelu struktury krystalograficznej ureazy.

Potwierdzono, że badane szczepy *Lactobacillus* hamują proces krystalizacji w układzie z ureazą co wskazuje na ich wpływ na aktywność tego enzymu. Podobne wyniki otrzymano w układzie z kwasem mlekowym. Wyniki kinetyki reakcji enzymatycznej wykazały, że kwas mlekowy hamuje aktywność ureazy poprzez oddziaływanie kompetycyjne z centrum aktywnym enzymu. Badania *in silico* potwierdziły oddziaływanie kwasu mlekowego z centrum aktywnym, a ponadto wykazały prawie dwukrotnie silniejsze oddziaływanie kwasu mlekowego z enzymem niż mocznik. Powyższe wyniki wskazują, że kwas mlekowy wydzielany przez *Lactobacillus* hamuje aktywność ureazy, a co za tym idzie proces krystalizacji i rozwój infekcyjnych kamieni moczowych, co w przyszłości może stanowić wsparcie w terapii i leczeniu tej choroby.

Aktywność cytokinowa komórek dendrytycznych stymulowanych archeonami halofilnymi izolowanymi ze skał z Kopalni Soli Bochnia

Gabriela Arciszewska¹, Jolanta Kalinowska¹, Dominika Drzewiecka², Aleksandra Puławska^{3,4}, Luciana Albuquerque⁵, Magdalena Kowalewicz-Kulbat¹

¹Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytet Łódzki ul. Banacha 12/16 90-237 Łódź

²Pracownia Mikrobiologii Ogólnej, Katedra Biologii Bakterii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytet Łódzki ul. Banacha 12/16 90-237 Łódź

³Wydział Geologii, Geofizyki i Ochrony Środowiska, Akademia Górniczo-Hutnicza w Krakowie Al. A. Mickiewicza 30 30-059 Kraków

⁴Kopalnia Soli Bochnia ul. Campi 15 32-700 Bochnia

⁵Laboratório de Microbiologia, Centro de Neurociências e Biologia Celular, Universidade de Coimbra, UC-Biotech CNC, Biocant Park, Núcleo 04 Lote 8, 3060-197 Cantanhede |Portugal

Archeony halofilne to prokariotyczne drobnoustroje jednokomórkowe odmienne zarówno od eukariontów, jak i bakterii, zdolne do zasiedlania środowisk o wysokim stopniu zasolenia, w tym kopalni soli. Do tej pory oddziaływanie halofili wyizolowanych ze skał z komórkami układu odpornościowego człowieka nigdy nie było badane.

Komórki dendrytyczne (KD) to profesjonalne komórki prezentujące antygen stanowiące łącznik elementów odporności wrodzonej i nabytej. Mają one zdolność inicjowania i regulowania odpowiedzi odpornościowej gospodarza. Celem pracy była ocena zdolności prezentowanych przez KD archeonów halofilnych izolowanych ze skał Kopalni Soli Bochnia, do produkcji cytokin IL-10 i TNF- α .

Materiał do badań stanowiły kożuszki leukocyтарно-пłytkowe osób zdrowych, z których izolowano monocyty, które przekształcano w obecności GM-CSF i IL-4 w KD, które następnie stymulowano 24h izolatami archeonów halofilnych: *Halalkalicoccus paucihalophilus*, *Halococcus salifodinae* oraz *Halococcus morrhuae*, o gęstości 1×10^6 kom/ml w proporcji KD:halofil 1:1. Poziom cytokin IL-10 i TNF- α oceniono w supernatantach pochodzących za pomocą ELISA. Komórki dendrytyczne niestymulowane oraz stymulowane LPS stanowiły kontrolę negatywną oraz pozytywną, odpowiednio.

Spośród badanych szczepów, *H. salifodinae* wykazywał najwyższą zdolność do pobudzania KD do produkcji IL-10 oraz TNF- α w porównaniu do szczepu *H. paucihalophilus* oraz *H. morrhuae*. Niniejsza praca po raz pierwszy wskazuje na zdolność archeonów halofilnych bytujących w skałach Kopalni Soli Bochnia do pobudzania komórek dendrytycznych do produkcji cytokin. Wiedza ta stanowi cenny wkład w lepsze zrozumienie w przyszłości znaczenia archeonów bytujących w materiale skalnym w kształtowaniu mikrośrodowiska aerozolu w miejscu odbywania haloterapii wspomagającej leczenie chorób układu oddechowego. Finansowanie: Studencki Grant Badawczy UŁ 2023 oraz Narodowe Centrum Nauki numer projektu 2021/41/N/ST10/02751.

Badanie właściwości biologicznych ekstraktów korzeni żeńszenia pięciolistnego pozyskanych metoda tradycyjną i biotechnologiczną

Ksenia Urbaniak¹, Adrianna Kukiela¹, Weronika Gonciarz², Ewa Kochan¹

¹Zakład Biotechnologii Farmaceutycznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi ²Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej, Uniwersytet Łódzki

Żeńszeh jest znaną od wieków rośliną leczniczą. Surowcem farmakopealnym są korzenie. Obecnie na skalę przemysłową gatunek ten pozyskuje się z upraw gruntowych. Jednakże ze względu na długi czas (min. 3 lata) jaki jest niezbędny do pozyskania materiału bogatego w związki biologiczne, poszukuje się alternatywnych sposobów otrzymywania biomasy żeńszeniowej. Należą do nich metody biotechnologiczne w tym kultury korzeni transformowanych, które rosną krótko (28 dni) i są zdolne w tym czasie produkować cenne metabolity wtórne - ginsenozydy - na porównywalnym poziomie co korzenie gruntowe. Ginsenozydy, to saponiny triterpenowe, będące pochodnymi protopanaksadiolu (Rb1, Rb2, Rb3, Rc, Rd) i protopanaksatriolu (Rg1, Rg2, Re), odpowiadają za większość działań farmakologicznych żeńszeha. Celem badań było określenie właściwości przeciwdrobnoustrojowych i cytotoksycznych wyciągów z korzeni transgenicznych i tradycyjnie uprawianych.

Materiał do badań stanowiły ekstrakty wyizolowane z trzech klonów korzeni transformowanych, tj. A, B, G, a także korzenie gruntowego pozyskanego z Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. Korzenie poddano ekstrakcji 80% etanolem a następnie oczyszczeniu na kolumnkach SPE wypełnionych złożem C18. Zostały one zbadane pod względem zawartości saponin triterpenowych (metoda HPLC), a także pod kątem ich właściwości mikrobiologicznych - metoda mikrorozcieńczeń, z oznaczeniem minimalnego stężenia hamującego (MIC), minimalnego stężenia bakteriobójczego (MBC) oraz minimalnego stężenia grzybobójczego (MFC). Próby wykonano z użyciem szczepów referencyjnych pochodzących z American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, USA), wśród których znajdowały się bakterie Gram-dodatnie: *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 i Gram-ujemne: *Escherichia coli* ATCC 25922 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, oraz szczepy grzybów: *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida glabrata* ATCC 2001.

Celem określenia skuteczności działania przeciwdrobnoustrojowego poszczególnych klonów korzeni posłużono się gentamycyną i amfoterycyną B jako wzorcami. W ekstraktach z korzenia gruntowego oraz z klonów korzeni transformowanych A, B, G zaobserwowano właściwości bakteriobójcze dla szczepów *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* i *Staphylococcus epidermidis*. Otrzymane wyniki pokazują, że w celu osiągnięcia działania przeciwbakteryjnego należy użyć zdecydowanie większego stężenia ekstraktów z badanych korzeni, niż referencyjnego antybiotyku, co wskazuje na ich słabe właściwości przeciwdrobnoustrojowe. Przygotowane ekstrakty nie wykazały właściwości grzybobójczych.

Cytotoksyczność badanych wyciągów została oznaczona na linii komórkowej ludzkich fibroblastów oraz komórek nowotworowych żołądka z użyciem metody MTT. W badaniach przeprowadzonych na linii komórkowej ludzkich fibroblastów (Hs68) okazało się, że ekstrakty z korzenia gruntowego oraz klonu A korzeni transformowanych nie wykazywały działania cytotoksycznego w zakresie stężeń 0,05-1,25 mg/mL (5-28 ± 1,8% martwych komórek), natomiast ekstrakty z klonów B i G w zakresie stężeń 0,05-5 mg/mL (10-29 ± 1,5% martwych komórek). W przypadku doświadczeń przeprowadzonych na linii komórek nowotworowych żołądka podobne wyniki uzyskano w odniesieniu do korzenia gruntowego (nietoksyczne działanie w zakresie: 0,5-1,25 mg/mL) natomiast najslabsze działanie toksyczne wobec tych komórek wykazał ekstrakt uzyskany klonu G korzeni transformowanych (nietoksyczny do stężenia 10 mg/mL). Najwyższą zawartość saponin oznaczono w korzeniu gruntowym (13,47 mg/g s.m.) a najniższą w klonie G (5,53 mg/g s.m.). Uzyskane wyniki sugerują, że cytotoksyczność wobec badanych komórek może wiązać się z poziomem ginsenozydów w badanych wyciągach.

Wpływ jonów cynku na krystalizację powodowaną przez *Proteus mirabilis* w procesie powstawania kamieni moczowych

Emilia Konopka¹, Agnieszka Torzewska¹

1) Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biologii Bakterii, ul. Stefana Banacha 12/16, 90-237 Łódź

Wstęp: Infekcje dróg moczowych bakteriami z rodzaju *Proteus* przyczyniają się do rozwoju kamicy moczowej. W tym procesie ważną rolę odgrywa bakteryjna ureaza, która rozkładając mocznik doprowadza do podniesienia pH moczu i krystalizacji fosforanów wapnia (apatytu) i magnezu (struwitu). Poza bakteriami, wiele czynników może wpływać na ten proces, w tym też obecność różnych metali w moczu, np. cynku. Wykazano wpływ jonów cynku na drobnoustroje, a także jego obecność w kamieniach moczowych, zatem analiza wpływu metalu na zjawisko krystalizacji wywołanej infekcjami bakteryjnymi, może mieć istotne znaczenie w diagnostyce, leczeniu oraz prewencji kamicy moczowej.

Cel pracy: Celem badań była ocena wpływu różnych stężeń jonów cynku na krystalizację związków chemicznych zawartych w moczu, wywołaną infekcjami ureazo-dodatnich bakterii *Proteus mirabilis*, która prowadzi do powstawania kamicy moczowej.

Materiały i metody: Badania wykonywano *in vitro* z zastosowaniem uropatogennego szczepu *P. mirabilis* i syntetycznego moczu. Próby badane zawierały zawiesinę bakterii w moczu syntetycznym, o gęstości 10^6 kom./ml oraz różne stężenia jonów cynku: 100 $\mu\text{g/l}$, 300 $\mu\text{g/l}$ oraz 1000 $\mu\text{g/l}$. Uwzględniono kontrolę dodatnią (bez jonów cynku) oraz kontrolę ujemną (mocz syntetyczny). Próby inkubowano w 37°C przez 24 godziny. W czasie inkubacji po 1-5 i 24 godzinie mierzono: stopień zmętnienia (absorbancja przy 600 nm), pH, aktywności ureazy z zastosowaniem metody kolorymetrycznej. W 5-tej oraz 24-tej godzinie pobrano próby do obserwacji mikroskopowej kryształów oraz do analizy składu chemicznego powstałych kryształów z wykorzystaniem spektroskopii absorpcji atomowej (AAS). Określono również w 0, 2, 6 oraz 24 godzinie żywotność bakterii w obecności jonów cynku wyznaczając CFU/ml na podłożu TSA.

Wyniki: Wykazano większą liczbę bakterii w próbach z dodatkiem cynku w porównaniu do kontroli. W próbach zawierających cynk wzrost pH następował szybciej, ale nie zaobserwowano wpływu tego jonu na aktywność ureazy i intensywność krystalizacji wraz ze wzrostem stężenia jonów cynku w próbach.

Wnioski: Jony cynku wpływają stymulują przede wszystkim na żywotność bakterii, co wpływa na zwiększenie szybkości oraz intensywności krystalizacji soli w moczu. Zbyt wysokie stężenie Zn^{2+} może zatem sprzyjać rozwojowi kamicy moczowej.

Finansowanie: Studencki Grant Badawczy, UŁ 2023, „Wpływ jonów cynku na krystalizację powodowaną przez *Proteus mirabilis*”

Współdziałanie ekstraktów z kory kaliny koralowej oraz lizostafiny w hamowaniu procesu tworzenia biofilmu przez gronkowce złociste

Klaudia Kobłowska, Beata Sadowska

Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

Wstęp: Ekstrakty roślinne stanowią bogate źródło substancji czynnych, które wykazują między innymi działanie przeciwdrobnoustrojowe. We wcześniejszych badaniach Zespołu udowodniono zdolność ekstraktów z kaliny koralowej (*Viburnum opus* L.) do hamowania aktywności sortazy A (SrtA) *Staphylococcus aureus*. Celem obecnych badań było sprawdzenie synergistycznego działania ekstraktów z kory kaliny koralowej z lizostafiną (Lys), jako czynnikiem uszkadzającym ścianę komórkową *S. aureus*, na proces tworzenia biofilmu przez te bakterie, w ramach poszukiwania alternatywnych metod ograniczania rozwoju zakażeń gronkowcowych.

Materiały i metody: Badania były prowadzone na szczepach referencyjnych gronkowców: *S. aureus* ATCC 29213 (MSSA) oraz *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA). Biofilmy były zakładane na mikroplótkach polistyrenowych hodowlanych (96-studzienkowych) oraz w komorach hodowlanych typu chamber slides, w obecności badanych ekstraktów: KaK / KeK / KwK - ekstrakt acetonowy (a), etanolowy (e) i wodny (w) z kory (K) kaliny koralowej lub kwasu chlorogenowego (ChA; związek referencyjny obecny we wszystkich ekstraktach) stosowanych samodzielnie oraz w połączeniu z lizostafiną *S. staphylolyticus* [Merck, Niemcy]. Biomasa tworzącego się biofilmu oraz żywotność komórek w biofilmie oceniano po 24 i 48 godzinach ko-inkubacji przez pomiar fluorescencji po barwieniu drobnoustrojów z zastosowaniem LIVE/DEAD BacLight Bacterial Viability Kit.

Wyniki: Ze wszystkich badanych preparatów jedynie ekstrakt wodny z kory kaliny (KwK) stosowany samodzielnie wykazywał zdolność hamowania tworzenia biofilmu przez oba badane szczepy *S. aureus* w obu czasach ekspozycji. Wykazano redukcję biomasy biofilmu *S. aureus* ATCC 43300 w obecności KwK w zakresie 42,7-45,9%, zaś biofilmu *S. aureus* ATCC 29213 w zakresie 12,3-33,1% w stosunku do biofilmów kontrolnych. Przy czym równoczesna obecność lizostafiny (KwK+Lys) nie spowodowała nasilenia właściwości hamujących ekstraktu. Równie silną aktywność przeciwbiofilmową (hamowanie tworzenia biofilmu na poziomie 54,6%) wykazywał preparat kwasu chlorogenowego w połączeniu z Lys, chociaż tylko wobec szczepu *S. aureus* ATCC 43300 i jedynie przy krótszym czasie ekspozycji bakterii.

Podsumowanie: Nie stwierdzono synergistycznego działania lizostafiny z ekstraktami z kory kaliny koralowej, stosowanych w stężeniach subinhibicyjnych, na hamowanie tworzenia się biofilmu *S. aureus*.

Projekt współfinansowany ze środków Studenckiego Grantu Badawczego nr SGB_523 przyznanego przez Uniwersytet Łódzki Klaudii Kobłowskiej w 2023 r.

Wpływ kwasu homogentyzynowego na procesy naprawcze i osteoindukcyjne zachodzące w komórkach kostnych i chrzęstnych

MIKOŁAJ CYBULSKI¹, MATEUSZ M. URBANIAK^{2,3}, KAROLINA RUDNICKA³, MAGDALENA CHMIELA³

¹Student II roku II° kierunku Biotechnologia Medyczna na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

²Szkoła Doktorska BioMedChem Uniwersytetu Łódzkiego i Instytutów Polskiej Akademii Nauk w Łodzi, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

³Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej Instytutu Mikrobiologii, Biotechnologii i Immunologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

Kwas homogentyzynowy (HGA) jest kluczowym substratem w syntezie piomelaniny (PM) przez bakterie *Pseudomonas aeruginosa*. PM wykazuje właściwości immunomodulujące, proregeneracyjne i wspierające procesy osteoindukcyjne. Ponadto w szerokim zakresie stężeń wykazuje cyto i biozgodność. Celem pracy jest zbadanie czy kwas homogentyzynowy posiada właściwości zbieżne z właściwościami PM (Urbaniak et al., 2023).

Wartość CC_{50} (50% cytotoxicity concentrations) HGA określono w teście redukcji MTT (bromek 3-(4,5-dimetylo-2-ilo)-2,5-difenylo-2-tetrazolu) względem wzorcowych fibroblastów L-929 oraz osteoblastów i chondrocytów człowieka. Proliferację osteoblastów i aktywność fosfatazy alkalicznej (ALP), będącej wyznacznikiem procesu kostnienia oceniono po 7, 14 i 21 dniach stymulacji komórek HGA w warunkach osteoindukcyjnych. Właściwości proregeneracyjne HGA względem osteoblastów i chondrocytów oceniono w tzw. „teście gojenia rany”. Właściwości immunomodulacyjne zbadano na modelu monocytów THP-1 Blue™ NF-κB.

Wartość CC_{50} HGA dla fibroblastów, osteoblastów i chondrocytów wynosi odpowiednio 40.3 μg/ml, 36.2 μg/ml i 146.2 μg/ml. Wstępne wyniki badań wskazują, że HGA w stężeniu 1 μg/ml wykazuje działanie proregeneracyjne względem osteoblastów i chondrocytów człowieka. W stężeniach 1 i 16 μg/ml HGA nie wspomaga proliferacji w długoterminowych hodowlach osteoblastów, natomiast w stężeniu 1 μg/ml HGA istotnie stymuluje aktywność fosfatazy alkalicznej (ALP) po 7 dniach osteoindukcji. W zakresie stężeń 1 – 1024 μg/ml HGA nie aktywował szlaku NF-κB na modelu monocytów THP-1 Blue™. Wykazano, że HGA w stężeniach cytozgodnych wspiera migrację osteoblastów i chondrocytów, konieczną w początkowych procesach naprawczych. Ponadto HGA nasila wydzielanie ALP przez osteoblasty ludzkie, nie pobudzając proliferacji takich komórek, co może wiązać się z nasilaniem różnicowania komórek kostnych i stymulacją procesów kostnienia, którym towarzyszy zahamowanie podziałów komórkowych.

Badania wykonano w ramach projektu „Kwas homogentyzynowy jako potencjalny stymulator procesów osteoindukcyjnych”, który uzyskał finansowanie w VII edycji konkursu Studenckie Granty Badawcze UŁ.

Osiągnięcie badawcze zrealizowane podczas kształcenia tutoringowego Pana Mikołaja Cybulskiego w ramach projektu pn. „Mistrzowie dydaktyki” współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego w ramach Programu Operacyjnego Wiedza Edukacja Rozwój; realizowany przez Uniwersytet w ramach umowy MNiSW/2020/312/DIR/KH.

Wpływ swoistych przeciwciał na pasożytniczego pierwotniaka *Toxoplasma gondii*Piotr Jaroszyk¹, Maciej Chyb^{1,2} i Justyna Gatkowska¹¹Katedra Mikrobiologii Molekularnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, Banacha 12/16, 90-237 Łódź²Szkoła Doktorska BioMedChem Uniwersytetu Łódzkiego i Instytutów Polskiej Akademii Nauk w Łodzi, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, Banacha 12/16, 90-237 Łódź

Parazytozy nadal stanowią istotny problem globalny. Jednym z najczęściej występujących pasożytów jest pierwotniak *Toxoplasma gondii*. Szacuje się, że u około 30% światowej populacji występuje dodatni odczyn serologiczny świadczący o kontakcie z *T. gondii*. Zараżenie tym pasożytem jest szczególnie niebezpieczne dla osób z upośledzoną odpornością, u których inwazja może mieć poważne skutki lub nawet prowadzić do śmierci. Dostępne leki nie pozwalają na eliminację cyst tkankowych pasożyta i wywołują często toksyczne działania niepożądane. Dodatkowym problemem jest coraz częstsza lekooporność szczepów pierwotniaka, co skłania do poszukiwania nowych sposobów leczenia oraz immunoprofilaktyki toksoplazmozy.

Celem niniejszej pracy była analiza wpływu swoistych przeciwciał obecnych w surowicach odpornościowych skierowanych przeciwko wybranym białkom rekombinowanym *T. gondii* oraz surowicach od myszy z doświadczalną toksoplazmozą na upośledzenie procesu namnażania pasożyta w komórkach żywicielskich, a także określenie etapu na jakim dochodzi do zaburzenia tego procesu.

Pierwszym etapem była optymalizacja wykorzystywanych testów. W tej części pracy ustalono warunki przeprowadzanych doświadczeń, w tym wyznaczono odpowiednią liczbę komórek żywicielskich oraz pasożyta, wybrano właściwy czas, w którym odczytywana jest wartość fluorescencji, a także dobrano rozcieńczenie zastosowanych surowic badanych oraz surowicy kawii domowej stanowiącej źródło dopełniacza. Kolejnym krokiem było określenie intensywności namnażania pierwotniaka *T. gondii* w komórkach żywicielskich z wykorzystaniem pomiaru fluorescencji, co było możliwe dzięki wykorzystaniu szczepu pasożyta cechującego się stabilną ekspresją genu zielonej fluorescencji.

W rezultacie przeprowadzonych doświadczeń wykazano, że inaktywowana termicznie surowica myszy z doświadczalną toksoplazmozą w połączeniu z dopełniaczem pochodzącym z surowicy kawii domowej ma znaczący wpływ na obniżenie liczby komórek *T. gondii* w hodowli, co świadczy o upośledzeniu procesu inwazji pasożyta do komórek żywicielskich.

Praca finansowana ze Studenckiego Grantu Badawczego w ramach programu „Inicjatywa Doskonałości – Uczelnia Badawcza”, Uniwersytet Łódzki, na lata 2020-2026.

Częstość izolowania *Staphylococcus aureus* (MRSA) w szpitalu o profilu ogólnym w latach 2019-2021

Tenderenda Anna¹, Łysakowska Monika², Gawron-Skarbek Anna¹

¹Klinika Geriatrii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

²Zakład Mikrobiologii i Laboratoryjnej Immunologii Medycznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Metycylinooporne izolaty *Staphylococcus aureus* (ang. methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* - MRSA) są jednymi z wiodących czynników etiologicznych zakażeń szpitalnych. Te szeroko rozpowszechnione bakterie patogenne powodują ropne zakażenia skóry i tkanek łącznych, zakażenia uogólnione oraz zatrucia pokarmowe. Zgodnie z ostatnimi doniesieniami, odsetek występowania MRSA dla populacji krajów EU/EEA znacząco spadł: z poziomu 18,8% w 2012 roku do 16,8% w 2015 roku. Pomimo tego pozytywnego trendu, redukcja MRSA pozostaje jednym z priorytetów zdrowia publicznego w Europie.

Celem badania była analiza częstości izolacji oraz dokonanie charakterystyki lekooporności szczepów MRSA wyhodowanych z materiałów klinicznych w szpitalu o profilu ogólnym.

Badanie polegało na retrospektywnej analizie wyników badań mikrobiologicznych materiałów diagnostycznych pobranych od pacjentów hospitalizowanych w szpitalu ogólnym (16 oddziałów; 380 łóżek) (Tarnobrzeg, Polska) w latach 2019-2021 (RNN/184/22/KE). Łącznie przeanalizowano 14 474 wyników badań mikrobiologicznych. Identyfikację szczepów i badanie wrażliwości na różne grupy antybiotyków przeprowadzono za pomocą systemu automatycznego Vitek 2 Compact. Dodatkowo zastosowano metodę dyfuzji krążkowej. Wyniki zinterpretowano zgodnie z wartościami MIC (ang. minimum inhibitory concentration), zalecanymi przez EUCAST. Baza danych, zawierająca zestawienie wykonanych badań mikrobiologicznych została przygotowana przy użyciu laboratoryjnego systemu informatycznego (LIS Centrum MARCEL S.A., Polska).

W roku 2019 wyizolowano 245 (13,37%) szczepów *S. aureus*, odpowiednio w roku 2020 – 152 (13,98%), a w 2021 – 130 (12,05%). Zaobserwowano spadek częstości występowania szczepu *S. aureus* o 9,87% w roku 2021 w stosunku do roku 2019 ($p < 0.0001$). W roku 2019 odnotowano 39 przypadków MRSA (co stanowiło 12,96% spośród wszystkich mechanizmów oporności), odpowiednio w roku 2020 – 11 (5,24%) przypadków, a w 2021 – 5 (2,33%) przypadków. Zaobserwowano spadek częstości MRSA, ze średniorocznym tempem na poziomie 57,97% ($p < 0.0001$).

Częstość występowania szczepów MRSA w środowisku szpitalnym w Polsce zmniejsza się, co jest zgodne z trendami europejskimi.

Potencjalne działanie prooksydacyjne kwasu askorbinowego wobec pałeczek uropatogennych *Proteus mirabilis*

Sandra Kras*, Paulina Stolarek, Antoni Różalski

Katedra Biologii Bakterii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Stefana Banacha 12/16, 90-237, Łódź

Wstęp: *Proteus mirabilis* należy do bakterii wywołujących skomplikowane zakażenia układu moczowego (ZUM) [1]. Często praktykowaną podczas leczenia ZUM lub zapobiegania jego nawrotom jest suplementacja kwasem askorbinowym. Głównie stosuje się ją w celu zakwaszenia moczu, ale również wspomagająco. Kwas askorbinowy posiada udokumentowane właściwości przeciwdrobnoustrojowe [2] i antybiofilmowe [3], jednakże mechanizm tych oddziaływań nie został jak dotąd poznany.

Cel: Celem przeprowadzonych badań było zweryfikowanie hipotezy o nadprodukcji reaktywnych form tlenu (RFT) oraz azotu (RFA) w komórkach *P. mirabilis* indukowanych obecnością kwasu askorbinowego.

Materiały i metody: Badania prowadzono na dwóch szczepach *P. mirabilis* nazwanych numerycznie jako C12 i 1984 oraz jednym szczepie referencyjnym ATCC 29906. Komórki *P. mirabilis* namnażano na podłożu TSB. Następnie zakładano hodowle właściwe: kontrolne i suplementowane kwasem askorbinowym w stężeniu 3,4 g/L. Hodowle zakładano na dwóch podłożach – standardowym podłożu TSB oraz TSB zmodyfikowanym o dodatek mocznika w stężeniu 9,3 g/L. W następnym etapie, komórki znakowano jednym z trzech fluoroforów: dihydroetydyną (DHE, 10 μ M), dioctanem 2',7'-dichlorofluorescyny (H₂DCFDA, 10 μ M) lub 1,3-difenyloizobenzofuranem (DPBF, 8,3 μ M). Pomiary intensywności fluorescencji wykonywano przy użyciu czytnika mikroplitek Spectramax i3, przy następujących ustawieniach: λ_{wz} = 485 nm i λ_{em} = 535 nm dla komórek znakowanych H₂DCFDA; λ_{wz} = 410 nm i λ_{em} = 455 nm dla komórek znakowanych DPBF; λ_{wz} = 500 nm i λ_{em} = 590 nm dla komórek znakowanych DHE.

Wyniki: Intensywności fluorescencji dichlorofluorescyny w komórkach *P. mirabilis* poddanych działaniu kwasu askorbinowego przyrastały w czasie jedynie wtedy gdy były namnażane na podłożu z mocznikiem. Spośród badanych szczepów, najwyższy wyrzut rodników hydroksylowych i nadtlenoazotynów zaobserwowano w pałeczkach szczepu *P. mirabilis* C12.

Wnioski: Obecność kwasu askorbinowego indukuje powstawanie RFT i RFA w pałeczkach uropatogennych *P. mirabilis* namnażających się w obecności mocznika.

Projekt współfinansowany ze środków Studenckiego Grantu Badawczego przyznanego Sandrze Kras przez Uniwersytet Łódzki w 2023 r.

[1] Yuan i in., 2021. doi: 10.1159/000514097.

[2] Mumtaz i in., 2021. doi: 10.1590/1519-6984.

[3] Xu i in., 2022. doi: 10.1016/j.jisci.2022.

Wpływ *Mycobacterium bovis* BCG na aktywność fagocytarną makrofagów osłabioną przez pałeczki *Helicobacter pylori*

Weronika Gonciarz¹, Weronika Orłowska¹, Magdalena Chmiela¹

¹Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej, Instytut Mikrobiologii, Biotechnologii i Immunologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, Banacha 12/16, 90-237 Łódź

Wstęp. Gram-ujemne pałeczki *Helicobacter pylori* (Hp) są czynnikiem etiologicznym przewlekłego zapalenia błony śluzowej żołądka i dwunastnicy, wrzodów tych narządów oraz raka żołądka. Zakażenie Hp jest trudne do eradykacji, ponieważ bakterie te hamują aktywność komórek odpornościowych, w tym makrofagów, komórek NK i limfocytów T. Skłania to, do poszukiwania terapii alternatywnych, m.in. opartych na immunomodulacji. Do potencjalnych immunomodulatorów należą prątki szczepionkowe *Mycobacterium bovis* BCG, składnik preparatu do immunoterapii raka pęcherza moczowego (onko-BCG, Biomed, Lublin). **Cel.** Ocena *in vitro* zdolności prątków onko-BCG do modulowania aktywności makrofagów szpikowych kawii domowej w środowisku Hp, na podstawie nasilenia fagocytozy, depozycji powierzchniowej cząsteczki CD11b oraz globalnej metylacji DNA. **Materialy i metody.** Makrofagi izolowano z kości długich kawii domowej (zgodą LKE: ŁB 16/234/2022) i hodowano (5×10^6 kom./mL) w podłożu cRPMI (37°C, 5% CO₂), a następnie stymulowano onko-BCG lub żywymi pałeczkami Hp CCUG17874 (Kolekcja Szczepów Uniwersytetu w Göteborgu, Szwecja), stosując krotność infekcji - MOI 10:1. Makrofagi stymulowano wg schematu: indukcja BCG (24h) i restymulacja BCG (5 dni); indukcja BCG (24h), restymulacja Hp (5 dni); indukcja BCG (24h), restymulacja Hp (5 dni) i restymulacja BCG (24h). Aktywność fagocytarną makrofagów oceniano wobec znakowanych fluoresceiną pałeczek *E. coli* (Vybrant Phagocytosis Assay Kit, ThermoScientific), depozycję cząsteczek CD11b w barwieniu immunofluorescencyjnym przeciwciałami anti-CD11b i drugorzędowymi przeciwciałami znakowanymi AlexaFluor®488. W DNA wyizolowanym z makrofagów oceniano poziom 5-hmC (globalna metylacja DNA) w handlowym teście ELISA (Epigenetek). **Wyniki.** Wykazano, że stymulacja makrofagów onko-BCG istotnie nasilała fagocytozę *E. coli* oraz metylację DNA w stosunku do komórek kontrolnych. Ekspozycja makrofagów na onko-BCG przez 24h nie skutkowała nasileniem depozycji CD11b. Efekt wzmocnienia wykazano we wszystkich wariantach restymulacji makrofagów onko-BCG. **Wnioski.** Prątki *M. bovis* onko-BCG wzmacniają aktywność fagocytarną makrofagów osłabioną przez Hp, w powiązaniu ze zwiększoną depozycją integryny CD11b i metylacją DNA, co sugeruje, że efekt ten może być wynikiem zmian epigenetycznych w makrofagach.

Poszukiwanie inhibitorów aktywności białek kompleksu degradosomu RNA u *Mycobacterium tuberculosis* w świetle wynalezienia nowych leków przeciwgruźliczych

Yaroslav Lavrychuk^{1,2}, Przemysław Płociński¹, Jakub Skibiński^{1,2}, Magdalena Mikołajczyk-Chmiela¹

1.Katedra Immunologii i Immunologii Infekcyjnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul Banacha 12/16 90-236, Łódź, Polska

2.Doktorant Szkoły Doktorskiej BioMedChem i Polskiej Akademii Nauk w Łodzi, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul Banacha 12/16 90-236, Łódź, Polska

Coraz częstsze nabywanie oporności drobnoustrojów na obecnie stosowane antybiotyki stanowi jeden z najpoważniejszych problemów medycyny obecnych czasów. Prątek gruźlicy (*Mycobacterium tuberculosis*) jest reprezentatywnym gatunkiem bakterii o narastającej lekooporności wśród drobnoustrojów chorobotwórczych. Gruźlica od tysięcy lat pozostaje jednym z głównych problemów zdrowotnych ludzi, obecnie powodując ponad milion zgonów rocznie na całym świecie. Leczenie gruźlicy jest długie i skomplikowane oraz wymaga stosowania kilku różnych antybiotyków na raz, ze względu na nabywanie lekooporności prątków na leki pierwszego rzutu.

Istnieje potrzeba poszukiwania nowych bądź modyfikacji leków pierwszego rzutu w celu zwalczania tej choroby w przyszłości. Stosowanym lekiem pierwszego rzutu w leczeniu gruźlicy jest pirazynamid, na który coraz częściej nabywają oporność prątki gruźlicy z grupy Multi Drug Resistance. W bazach naukowych opisano, że celem molekularnym pirazynamidu w komórce *Mycobacterium tuberculosis* może być kompleks degradosom RNA, w którego skład wchodzi min. białko helikaza RhlE oraz białko PNPaza. Kompleks ten bierze udział w procesie trans-translacji – systemu naprawy błędów podczas procesu translacji. Celem badań było poznanie mechanizmu oddziaływania pirazynamidu na białka degradosomu co umożliwiłoby zaburzenie ważnego dla przeżycia prątków gruźlicy mechanizmu trans-translacji. Dodatkowym zadaniem badawczym było wyprodukowanie białek rekombinowanych RhlE oraz PNP w czystej postaci oraz zbadanie występowania ich interakcji między sobą. Kolejnym celem badawczym było poznanie oddziaływania pirazynamidu na białka degradosomu w celu przeprowadzenia badań przesiewowych pochodnych pirazynamidu, posiadających bardziej skuteczną aktywność przeciwprątkową. Badania przesiewowe biblioteki związków pochodnych pirazynamidu wskazują na zahamowanie aktywności białka PNP-azy, a tym samym pozwalają wykryć działanie związków o charakterze bakteriostatycznym lub bakteriobójczym wobec *M.tuberculosis*. Natomiast potwierdzenie kluczowej roli helikazy RhlE w kompleksie degradosomu nakieruje na poszukiwanie nowych celów molekularnych w świetle wynalezienia nowych leków przeciwprątkowych.

Sfinansowano przez NCN: projekt numer 2019/34/E/NZ1/000338-SONATA-BIS9, kierownik dr. Przemysław Płociński.

Opracowanie modelu treningu odporności monocytów ludzkich indukowanych archeonami halofilnymi

Jolanta Kalinowska¹, Cezary Kowalski¹, Gabriela Arciszewska¹, Camille Locht^{1,2}, Krzysztof Krawczyk¹, Aleksandra Puławska^{3,4}, Luciana Albuquerque⁵, Magdalena Kowalewicz-Kulbat¹

¹Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytet Łódzki ul. Banacha 12/16 90-237 Łódź

²CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, U1019-UMR9017-CIIL-Center for Infection and Immunity of Lille, University Lille, CNRS, Inserm, F-59000, Lille, Francja

³Wydział Geologii, Geofizyki i Ochrony Środowiska, Akademia Górniczo-Hutnicza w Krakowie
Al. A. Mickiewicza 30 30-059 Kraków

⁴Kopalnia Soli Bochnia ul. Campi 15 32-700 Bochnia

⁵Laboratório de Microbiologia, Centro de Neurociências e Biologia Celular, Universidade de Coimbra, UC-Biotech CNC, Biocant Park, Núcleo 04 Lote 8, 3060-197 Cantanhede Portugal

Archeony halofilne to jednokomórkowe mikroorganizmy zdolne do życia w środowisku o wysokim stopniu zasolenia. Trening odporności to reakcja, której celem jest zapewnienie lepszej odpowiedzi odpornościowej na czynnik zapalny i utworzenie pamięci immunologicznej, która pozwala na wczesne budowanie odporności na reinfekcję. W dotychczasowych badaniach wykazano, iż archeony halofilne pobudzają komórki układu odpornościowego. Biorąc pod uwagę znaczenie tych drobnoustrojów w haloterapii, jako terapii wspomagającej leczenie chorób układu oddechowego, w prezentowanej pracy podjęto próbę oceny zdolności archeonów halofilnych *Halorhabdus rudnickae* i *Natrinema salaciae* do treningu odporności monocytów. Materiał do badań stanowiły komórki linii monocytarnej THP-1 o gęstości 1×10^6 kom/ml, które stymulowano halofilami w proporcjach komórka:halofil- 1:1, 1:5 oraz 5:1, oraz LPS jako kontrola pozytywna. Po 6h, 12h, 24h i 48h hodowli supernatanty zebrano, a następnie oceniono poziom IL-10 i TNF- α za pomocą testu ELISA. W pracy wykazano istotne nasilenie produkcji TNF- α i IL-10 przez stymulowane *H. rudnickae* i *N. salaciae* komórki THP-1 w 6h hodowli w porównaniu do komórek niestymulowanych. Wykazano spadek produkcji TNF- α i IL-10 przez komórki THP-1 stymulowane *H. rudnickae* we wszystkich czasach hodowli w porównaniu do 6h hodowli. Takiego efektu wyciszenia produkcji IL-10 nie zaobserwowano w przypadku stymulacji komórek szczepem *N. salaciae*. Ponadto, w celu sprawdzenia zdolności wzbudzania treningu odporności przez archeony halofilne bytujące w kopalni soli-miejscu odbywania haloterapii, wyizolowano szczep, z próbki powietrza pobranej w Kopalni Soli Bochnia, który na podstawie analizy genu 16S rRNA zidentyfikowano jako *Halococcus salifodinae*. Szczep ten będzie obecnie sprawdzany według takiego samego protokołu w modelu trenowanej odporności przez ludzkie monocyty. Prezentowane badania wskazały, iż archeony halofilne izolowane ze środowisk naturalnych zdolne są do interakcji z ludzkimi komórkami układu odpornościowego i wzbudzania trenowanej odporności, która może być jednym z czynników prozdrowotnego działania haloterapii w kopalniach soli. Studencki Grant Badawczy UŁ 2023 oraz Narodowe Centrum Nauki numer projektu 2021/41/N/ST10/02751.

Oczyszczanie substancji typu BLIS wyizolowanej z *Cutibacterium acnes* i oznaczenie jej aktywności względem wieloopornych bakterii gramdodatnich.

Piotr Machnik¹, Aneta Czarna², Wojciech Mielicki², Magdalena Szemraj¹, Monika Sienkiewicz¹

1) Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej i Diagnostyki Mikrobiologicznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

2) Zakład Biochemii Farmaceutycznej i Diagnostyki Molekularnej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Antybiotykooporność jest obecnie jednym z najpoważniejszych problemów, z jakimi musi mierzyć się medycyna. Nieprawidłowe i nadmierne stosowanie antybiotyków prowadzi do pojawiania się wieloopornych szczepów bakterii, co z kolei wymusza potrzebę poszukiwania alternatywnych metod leczenia infekcji. W tym kontekście bada się bakteriocyny, stosowane już powszechnie jako konserwanty. Są to białkowe substancje produkowane przez wiele bakterii w celu zahamowania wzrostu innych drobnoustrojów. Najczęściej wykazują one aktywność względem bakterii blisko spokrewnionych.

Celem pracy było oczyszczanie z wykorzystaniem HPLC bakteriocyny wyizolowanej z *Cutibacterium acnes* oraz oznaczenie jej aktywności względem wieloopornych bakterii gramdodatnich. Badano także jej synergistyczne działanie z antybiotykami aminoglikozydowymi.

Bakteriocyna była izolowana zgodnie z metodą opracowaną w trakcie wcześniejszych badań w ZMFiDM. Aktywne frakcje były następnie oczyszczane za pomocą HPLC (High-Performance Liquid Chromatography) z użyciem kolumny C18 RP i rozpuszczalników woda:acetonitryl. Z uzyskanych frakcji odparowywano acetonitryl i sprawdzano ich aktywność względem szczepu wskaźnikowego *Corynebacterium diphtheriae*. Następnie wykonywano antybiogramy metodą krążkowo-dyfuzyjną dla wybranych szczepów bakterii gramdodatnich oraz sprawdzano działanie bakteriocyny na te szczepy i jej synergistyczne działanie z gentamycyną.

Oczyszczona substancja wykazywała najwyższą aktywność względem bakterii z rodzaju *Corynebacterium*, w tym klinicznych wieloopornych *C. striatum*. Hamowała wzrost także niektórych szczepów z rodzaju *Staphylococcus*. Wstępne badania nad synergistycznym działaniem bakteriocyny z gentamycyną pokazały pozytywne wyniki u maczugowców jednak wymagają one dalszych badań.

Wrażliwość na chelatory żelaza paciorkowców izolowanych z zakażeń od zwierząt

Kinga Tomasik¹, Paweł Lisiecki²

¹ Koło Naukowe przy Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej i Diagnostyki Mikrobiologicznej,

² Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej i Diagnostyki Mikrobiologicznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, ul. Muszyńskiego 1, 90-151 Łódź

Żelazo jest niezbędnym pierwiastkiem dla wzrostu większości bakterii w tym z rodzaju *Streptococcus*. Przeżywanie bakterii w różnych siedliskach zależy od ich zdolności przystosowawczych do życia w ograniczonej dostępności do tego pierwiastka. Oporność lub wrażliwość na związki chelatujące żelaza może określać ich zdolności przystosowawcze do takich środowisk.

Celem pracy było poznanie wpływu naturalnych i syntetycznych chelatorów żelaza na wzrost paciorkowców izolowanych ze stanów zapalnych wymion krów.

W badaniach wykorzystywano 35 szczepów z rodzaju *Streptococcus* należących do trzech gatunków: *S. uberis*, *S. parauberis* i *S. dysgalactiae*. Zbadano wrażliwość szczepów na 3 naturalne i 6 syntetycznych chelatorów żelaza. Oznaczenia wykonano metodą dyfuzyjno-krażkową zgodnie z rekomendacjami EUCAST. Graniczną wielkość strefy zahamowania wzrostu dzielącą szczepy na wrażliwe i odporne ustalono drogą analizy statystycznej.

Wszystkie badane szczepy charakteryzowały się wrażliwością na dwa syntetyczne chelatory żelaza: 8-hydroksychinolinę w stężeniu 100 µg i o-fenantrolinę o stężeniu 1000 µg. Odsetek szczepów wrażliwych na kolejne dwa syntetyczne chelatory 2,2-dipirydył i EDTA w stężeniu 1000 µg był znacznie mniejszy i wynosił odpowiednio: 8,5% i 5,7%. Dwa pozostałe syntetyczne chelatory kwas 2,3-dihydroksybenzoesowy i trójoctan nitrylu w stężeniu 1000 µg nie hamowały wzrostu badanych szczepów. Żaden z badanych szczepów nie był wrażliwy na wykorzystane w badaniach naturalne chelatory żelaza: apotransferynę ludzką w stężeniu 100 µg, owotransferynę w stężeniu 1000 µg i desferioksaminy B w stężeniu 1000 µg.

Znaczna oporność zwierzęcych szczep z gatunków *S. uberis*, *S. parauberis* i *S. dysgalactiae* na chelatory żelaza wskazuje na ich dużą plastyczność w przystosowaniu się do życia w środowiskach o niskiej dostępności żelaza. Być może jest to związane z uruchamianiem mechanizmów poboru tego pierwiastka do komórek z wykorzystaniem niskocząsteczkowych chelatorów żelaza - sideroforów. Sideroforowe mechanizmu poboru żelaza u tych gatunków są słabo poznane. Gatunki paciorkowców wykorzystanych w badania są też izolowane z zakażeń od ludzi. Do pokonania bariery międzygatunkowej niezbędne są bakteriom efektywne mechanizmy poboru żelaza. Badane szczepy wykazały oporność na ludzką transferynę, co może wskazywać na zdolność pozyskiwania przez nie żelaza z tego ludzkiego ustrojowego źródła pierwiastka.

Wpływ wybranych związków na oksydacyjne modyfikacje białek mikrobioty jelitowej

Eliza Miaśkiewicz, Milena Just, Anna Lichota, Monika Sienkiewicz

Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej i Diagnostyki Mikrobiologicznej,
Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, ul. Muszyńskiego 1, 90-151 Łódź

Białka bakteryjne pełnią funkcje strukturalne, enzymatyczne, regulacyjne, transportowe oraz ochronne, zapewniając prawidłowy rozwój mikrobioty jelitowej. Generowanie reaktywnych form tlenu (ROS) przez czynniki zewnętrzne, w tym niektóre związki wykorzystywane w leczeniu, prowadzi do oksydacyjnych modyfikacji strukturalnych białek. W ten sposób dochodzi do utraty ich aktywności i może skutkować dysbiozą jelitową. Dysbioza mikrobioty jelitowej przyczynia się do rozwoju wielu chorób. Oznaczenie markerów oksydacyjnych modyfikacji białek pozwala na ocenę, czy powszechnie stosowane związki mogą mieć niekorzystny wpływ na mikrobiotę jelitową.

Celem pracy była ocena wpływu geraniolu, karwakrolu, rifaksyminy oraz sulfasalazyny na białka pochodzące od wzorcowych szczepów mikrobioty jelitowej: *Escherichia coli* (ATCC 25922) i *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212).

Do realizacji badań wykorzystano oznaczenie zawartości wolnych grup tiolowych w białkach wyizolowanych z hodowli bakteryjnych badanych szczepów. Hodowle te zostały poddane inkubacji z wybranymi związkami. Oznaczane grupy tiolowe (-SH) wchodzące w skład białek zawierających cysteinę, pełnią funkcje ochronne i są wrażliwe na działanie ROS. Do oceny zawartości tych grup zastosowano metodę Ellmana. Metoda ta polega na redukcji kwasu 5,5'-ditio-bis-(2-nitrobenzoesowego) (DTNB) przez wolne grupy tiolowe. Produktem tej reakcji jest 2-nitro-5-tiobenzoesan (TNB) o żółtym zabarwieniu, który jest oznaczany spektrofotometrycznie przy długości fali $\lambda=412$ nm.

Na podstawie otrzymanych wyników badań wykazano, że geraniol, sulfasalazyna, rifaksymina (w obu badanych stężeniach) oraz karwakrol w niższym stężeniu spowodowały wzrost stężenia grup tiolowych w komórkach *Escherichia coli*. W przypadku *Enterococcus faecalis* statystycznie istotny wzrost stężenia wolnych grup tiolowych zaobserwowano dla geraniolu, karwakrolu, rifaksyminy oraz wyższego stężenia sulfasalazyny.

Podsumowując, badane związki nie spowodowały spadku stężenia zredukowanych grup tiolowych u obu badanych bakterii.

Aktywność przeciwdrobnoustrojowa wybranych związków kompleksowych pochodnych kumaryny z jonami Cu(II), ich ligandów oraz biocydów wobec szczepów bakterii stanowiących najczęstszy czynnik etiologiczny ran i owrzodzeń.

Alicja Piotrowska, Eryka Piaszczyk, Magdalena Grażul, Monika Sienkiewicz

Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej i Diagnostyki Mikrobiologicznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Infekcje ran i owrzodzeń o charakterze przewlekłym stały się częstym problemem opieki zdrowotnej na całym świecie. Dotykają 1-1,5% populacji ogólnej a w przypadku osób powyżej 60 roku życia stanowią już 3% i ich liczba stale rośnie¹. Wśród nich, wymagającymi szczególnej uwagi są zakażenia ran i owrzodzeń stopy cukrzycowej, które pojawiają się u ponad połowy chorych. Najczęstszymi czynnikami etiologicznymi odpowiedzialnym za ich powstawanie są bakterie z gatunków: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* oraz *Escherichia coli*. Są to bakterie wyposażone w liczne mechanizmy oporności na antybiotyki oraz czynniki zjadliwości między innymi zdolność do tworzenia biofilmu, który uważany jest za wiodący czynnik wirulencji zabezpieczający mikroorganizmy przed warunkami środowiska i odpowiedzią immunologiczną gospodarza².

W związku z powyższym należy poszukiwać alternatywnych metod leczenia celem poprawienia efektów terapeutycznych i obniżenia współczynnika śmiertelności osób borykających się z infekcjami ran przewlekłych. Do substancji o obiecującej aktywności przeciwbakteryjnej możemy zaliczyć liczne związki kompleksowe posiadające w swej strukturze jony metali, np. Cu(II) oraz biocydy powszechnie wykorzystywane jako antyseptyki lub środki odkażające. Związki te mogą wspomóc leczenie konwencjonalne, gdyż posiadają zróżnicowane mechanizmy działania wobec bakterii.

Celem niniejszej pracy była ocena aktywności przeciwdrobnoustrojowej wybranych związków kompleksowych pochodnych kumaryny z jonami Cu(II), ich ligandów oraz biocydów: oktenidyny i chlorheksydyny. Ich działanie zbadano w stosunku do bakterii wyizolowanych z materiałów klinicznych jakimi były wymazy z ran i owrzodzeń o różnej etiologii (38 izolatów) oraz wobec 10 szczepów referencyjnych.

Zgodnie z rekomendacjami KORLD/EUCAST za pomocą metody dyfuzyjno-krażkowej zbadano lekowrażliwość oraz określono mechanizmy lekooporności użytych szczepów. Aktywność badanych związków oceniono pod kątem najmniejszego stężenia hamującego wzrost bakterii (MIC) oraz najmniejszego stężenia bakteriobójczego (MBC). W celu poznania mechanizmów działania badanych związków wykonano ocenę ich zdolności do rozcinania nici plazmidowego DNA bakteryjnego. Określono także sposób działania badanych związków na szczepy bakterii metodą time-kill oraz zbadano ich wpływ na powstawanie biofilmu metodą barwienia fioletem krystalicznym. Dodatkowo przeprowadzono badanie właściwości antyoksydacyjnych związków poprzez ocenę ich zdolności do redukcji wolnego rodnika DPPH*. Przeanalizowano ponadto synergistyczne działanie najbardziej aktywnego związku kompleksowego z antybiotykami oraz biocydami metodą szachownicy.

Najlepszą aktywność przeciwdrobnoustrojową spośród wszystkich badanych związków pochodnych kumaryny wykazał związek 8 (ligand będący pochodną kumaryny zawierał podstawniki pikolinowy i metylowy). Uzyskał on najniższe wartości MIC i MBC wobec wszystkich użytych szczepów gronkowców, pośród których testowano między innymi izolaty z mechanizmem oporności na antybiotyki typu MLSB konstytutywny, MRSB/MRSW.

Do szczepów, w przypadku których związek ten osiągnął także niższe wartości MIC i MBC, zaliczamy 5 izolatów *E. faecalis*, wśród których większość wykazywała oporność na penicyliny oraz posiadała mechanizm oporności typu HLAR. Biocydy natomiast wykazywały nawet ponad 100 razy lepszą aktywność wobec izolatów enterokoków w porównaniu do związku 8. Związek 4 (ligand będący pochodną kumaryny zawierał podstawniki histaminowy i metylowy) wykazał dobrą aktywność tylko wobec wzorcowych szczepów gronkowców. Pozostałe spośród analizowanych związków kompleksowych nie cechowały się znaczącą aktywnością wobec wykorzystanych do badań szczepów. Ligandy okazały się nieaktywne wobec wszystkich badanych szczepów (otrzymano bardzo wysokie wartości MIC i MBC), zatem należy przypuszczać, iż aktywność związku kompleksowego nie wynika z aktywności samego ligandu. Badania time-kill wykazały, że związek 8 działa bakteriobójczo na dwa spośród badanych izolatów gronkowców, natomiast na pozostałe szczepy bakteriostatycznie. Ponadto związek 8 wykazywał właściwości antyoksydacyjne, powodował rozcinanie dwuniciowego DNA oraz działał synergistycznie z wybranymi antybiotykami i biocydami wobec niektórych izolatów. Związek 8 powodował także lekkie zahamowanie produkcji biofilmu przez 2 spośród 6 badanych izolatów gronkowców, podczas gdy jego ligand nie wykazywał takiej aktywności.

¹ Jawień A., Bartoszewicz M., Przondo-Mordarska A. i wsp.; Wytyczne postępowania miejscowego i ogólnego w ranach objętych procesem infekcji; Leczenie Ran, 2012 9 (3) 59-75.

² Mrozikiewicz-Rakowska B., Jawień A. i wsp.; Postępowanie z chorym z zespołem stopy cukrzycowej – wytyczne Polskiego Towarzystwa Leczenia Ran 2021: część 1; Polskie Towarzystwo Leczenia Ran, 2021 18 (3) 71-114.

Typowanie kaset SCCmec u szczepów *Staphylococcus hominis* opornych na metycylinę

Dawid Nowowiejski, Paulina Głajzner, Magdalena Szemraj, Monika Sienkiewicz

Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej i Diagnostyki Mikrobiologicznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Gronkowce koagulazoujemne stały się ważnymi czynnikami etiologicznymi zakażeń. Wśród nich coraz większe zagrożenie, głównie dla osób z obniżoną odpornością, stanowi *Staphylococcus hominis*. Co więcej podkreśla się rosnącą oporność wśród szczepów tego gatunku na antybiotyki β -laktamowe i trudności w leczeniu zakażeń nimi spowodowanych.

Celem pracy było typowanie kaset chromosomalnych SCCmec u metycylinoopornych szczepów *S. hominis* izolowanych z materiałów klinicznych.

Kasety SCCmec typowano u 46 metycylinoopornych szczepów *S. hominis*. W tym celu poszukiwano metodą PCR klasy genów *mec* oraz typy genów *ccr*.

Otrzymane wyniki pokazały duże zróżnicowanie w występowaniu klas genów *mec* i typów genów *ccr*. Typ I kasety wystąpił u 19 szczepów *S. hominis*. Dwa szczepy miały kasety typu V, a jeden szczep typu IV. U 10 szczepów nie udało się określić typu kasety, co świadczyć może o występowaniu nowych, nieopisanych dotąd kaset SCCmec u *S. hominis*.

Ze względu na powszechną oporność na antybiotyki β -laktamowe, a także występowanie dużego zróżnicowania kaset u szczepów gronkowców koagulazoujemnych istnieje potrzeba dalszych badań nad budową kaset SCCmec oraz metodami ich typowania.

Wrażliwość szczepów *Staphylococcus pseudintermedius* izolowanych od zwierząt i ludzi na wybrane antybiotyki i środki antyseptyczne

Jarema Wódka¹, Paweł Lisiecki²

¹ Studenckie Koło Naukowe przy Zakładzie Mikrobiologii Farmaceutycznej i Diagnostyki Mikrobiologicznej,

² Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej i Diagnostyki Mikrobiologicznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Łódź 90-151.

Staphylococcus pseudintermedius to jeden z najczęściej izolowanych patogenów od zwierząt towarzyszących człowiekowi, najczęściej od psów. Odpowiada on głównie za ropne zakażenia skóry i rzadziej za zapalenia ucha czy zakażenia układu moczowo-płciowego. Infekcje dotyczą przede wszystkim zwierząt z obniżoną odpornością, a także tych z atopowym zapaleniem skóry. Coraz częściej odnotowuje się przeniesienie zakażenia na człowieka. Antybiotyki takie jak neomycyna, kwas fusydowy czy bacytracyna znajdują zastosowanie w medycynie weterynaryjnej do leczenia miejscowych zakażeń skóry. W walce z tego typu infekcjami wykorzystywane są także środki antyseptyczne.

Celem pracy było zbadanie wrażliwości 53 szczepów *S. pseudintermedius* pochodzących od zwierząt oraz 9 szczepów pochodzących od ludzi na antybiotyki do stosowania miejscowego (kwas fusydowy, neomycynę oraz bacytracynę) i związki antyseptyczne (oktenidynę, chlorheksydynę i jodopowidon).

Oznaczenia przeprowadzono zgodnie z wytycznymi CLSI i EUCAST. Wartości MIC antybiotyków określano metodą dyfuzyjno-krażkową (dla neomycyny) oraz przy użyciu E-testów (dla kwasu fusydowego i bacytracyny). Wartości MIC dla związków antyseptycznych wyznaczono metodą mikrorozcieńczeń w podłożu płynnym.

Wśród szczepów pochodzenia zwierzęcego na kwas fusydowy opornych było 9 izolatów (16,9%), na bacytracynę także 9 izolatów (16,9%), a na neomycynę aż 29 izolatów (54,7%). Wśród szczepów pochodzenia ludzkiego na kwas fusydowy, oporne były 2 izolaty, na bacytracynę 2 izolaty (22,2%) i na neomycynę także dwa izolaty (22,2%). Wszystkie badane szczepy charakteryzowały się wrażliwością na oktenidynę, chlorheksydynę i jodopowidon.

Niepokoii fakt wysokich odsetków szczepów opornych na neomycynę i bacytracynę. Są to antybiotyki przeznaczone do stosowania miejscowego, wykazujące dobre działanie przeciwgronkowcowe. Bacetracyna zaburza syntezę ściany komórkowej bakterii, natomiast neomycyna hamuje syntezę białka. Nadużywanie antybiotyków w leczeniu powierzchniowych zakażeń skóry zarówno w medycynie ludzkiej i weterynaryjnej obserwowane jest od lat. Niestosowanie się do zasad racjonalnej antybiotykoterapii może prowadzić do wykluczenia tych antybiotyków z lecznictwa. Należy podkreślić, że bacytracyna i neomycyna występują w preparat farmaceutycznych, które można otrzymać bez ordynacji lekarskiej.

Ocena wpływu wybranych komponentów olejków eterycznych na szczepy bakterii wyizolowane z ran i owrzodzeń

Filip Kazieko¹, Marta Ciupa¹, Aleksandra Saferna¹, Magdalena Grażul², Monika Sienkiewicz²

¹ Studenckie Koło Naukowe przy Zakładzie Mikrobiologii Farmaceutycznej i Diagnostyki Mikrobiologicznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

² Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej i Diagnostyki Mikrobiologicznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, e-mail: magdalena.grazul@umed.lodz.pl

Infekcje ran to bardzo złożone stany patologiczne, które mogą przejawiać się w dwojaki sposób: jako postać nagła, ostra lub przewlekła. Ostre i przewlekłe infekcje ran znacznie różnią się etiologią, mikrobiologicznym fenotypem, odpowiedzią układu odpornościowego oraz objawami klinicznymi [1]. Ocenia się, że rany przewlekłe obejmują ok. 1-1,5% populacji krajów rozwiniętych, a w Polsce jest to blisko 500tys. osób. Czynnikiem zwiększającym ryzyko ich wystąpienia jest cukrzyca i otyłość, które nieodwrotnie wiążą się z nieprawidłowym stanem naczyń krwionośnych, hiperglikemią oraz neuropatią. Za główny czynnik etiologiczny zakażeń ran uważane są bakterie [2], które znacząco przyczyniają się do trudności w procesach gojenia się. Dodatkowo na nieskuteczność terapii wpływa tworzenie przez drobnoustroje biofilmu stanowiącego swego rodzaju barierę utrudniającą m.in. penetrację antybiotyku [3]. Należy ponadto wspomnieć, że nieprawidłowy wybór, czy nadużycie antybiotyków w ciężko gojących się ranach może prowadzić do antybiotykooporności. Dlatego tak istotne jest poszukiwanie alternatywnych metod zwalczania drobnoustrojów w tych zakażeniach. Ciekawym wyborem wydają się być olejki eteryczne produkowane przez rośliny ze względu na szerokie spektrum aktywności prozdrowotnych ich komponentów. Wykazano, iż najsilniejsze właściwości przeciwdrobnoustrojowe wykazują olejki zawierające związki fenolowe, np. tymol, karwakrol, eugenol; alkohole, np. terpinen-4-ol, a-terpineol, geraniol, cytronelol, mentol, linalol, stosowane również w medycynie [4].

Celem pracy była analiza aktywności 4 wybranych komponentów olejków eterycznych: karwakrolu, geraniolu, eugenolu, *p*-cymenu wobec izolatów drobnoustrojów, które stanowiły czynnik etiologiczny infekcji ran. Do badań wykorzystano 5 izolatów gronkowców, 4 izolaty *E. coli*, 7 izolatów *E. faecalis*, a także 3 szczepy wzorcowe *S. epidermidis* ATCC 12228, *E. coli* NCTC 10538 oraz *E. faecalis* ATCC 1299. Właściwości przeciwdrobnoustrojowe (MIC/MBC) badanych związków oznaczono metodą mikrorozcieńczeń. W celu analizy sposobu działania badanych związków obliczono współczynnik MBC/MIC, w którym stosunek $MBC/MIC \leq 4$ oraz $MBC/MIC > 4$ zdefiniowano odpowiednio jako działanie bakteriobójcze i bakteriostatyczne. Szczepy wobec których otrzymano najniższe wartości MIC/MBC wykorzystano następnie do dalszych badań dotyczących właściwości wybranych komponentów. Zbadano, czy związki te mogą działać na wybrane gatunki bakterii synergistycznie z antybiotykami rekomendowanymi w leczeniu tego typu infekcji przez ośrodki EUCAST i KORLD oraz przeanalizowano wpływ badanych związków na produkcję biofilmu przez testowane szczepy bakterii.

Najlepszą aktywność przeciwdrobnoustrojową spośród wszystkich badanych komponentów manifestował eugenol, który okazał się być szczególnie aktywny wobec izolatów enterokoków i *E. coli*. oraz karwakrol wykazujący dość podobną aktywność wobec wszystkich testowanych szczepów wśród których większość była oporna na penicyliny, posiadała mechanizm oporności typu HLAR, MLSB konstytutywny lub MRSB/MRSW. Najsłabszą aktywnością wobec wszystkich wykorzystanych do badań szczepów wykazał się *p*-cymen. Testowane komponenty aplikowane z wybranymi antybiotykami działały synergistycznie wobec wybranych izolatów oraz powodowały niewielkie zahamowanie produkcji biofilmu. Uzyskane wyniki wskazują, że związki te mogłyby znaleźć zastosowanie w eradykacji bakterii stanowiących najpowszechniejsze czynniki etiologiczne infekcji ran i owrzodzeń.

Literatura

1. Hurlow J. Bowler P.G.; Acute and chronic wound infections: microbiological, immunological, clinical and therapeutic distinctions.; J Wound Care 2022
2. Sopata M., Jawień A., Mrozikiewicz-Rakowska B., et.al.; Wytyczne postępowania miejscowego w ranach niezakażonych, zagrożonych infekcją oraz zakażonych – przegląd dostępnych substancji przeciwdrobnoustrojowych stosowanych w leczeniu ran. Zalecenia Polskiego Towarzystwa Leczenia Ran. Leczenie Ran.; 2020
3. Falcone M., De Angelis B., Pea F., et.al.; Challenges in the management of chronic wound infections.; J. Glob. Antimicrob. Resist; 2021
4. Bozin B., Mimica-Dukic N., Simin N., Anackov G.; Characterization of the volatile composition of essential oils of some Lamiaceae species and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. J. Agric. Food Chem.; 2006

Olejek eteryczny nirgundi jako pomoc w leczeniu infekcji ran i owrzodzeń?Aleksandra Saferna¹, Zuzanna Węgrzyn¹, Magdalena Grażul², Monika Sienkiewicz²¹ Studenckie Koło Naukowe przy Zakładzie Mikrobiologii Farmaceutycznej i Diagnostyki Mikrobiologicznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny w Łodzi² Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej i Diagnostyki Mikrobiologicznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, e-mail: magdalena.grazul@umed.lodz.pl

Infekcje, o różnej etiologii, są jednymi z najczęściej napotykanych przyczyn problemów w leczeniu ran i owrzodzeń. Jeden z głównych powodów tych trudności stanowi rosnąca oporność drobnoustrojów na antybiotyki, chemioterapeutyki, a także szeroko wykorzystywane m.in. w rolnictwie biocydy [1]. W wielu przypadkach konwencjonalne metody leczenia ran przewlekłych okazują się być niewystarczające i z tego powodu konieczne jest poszukiwanie alternatywnych metod walki z drobnoustrojami chorobotwórczymi. Szczególnie interesującym kierunkiem poszukiwań wydają się być olejki eteryczne ze względu na ich szerokie spektrum właściwości prozdrowotnych. Dla przykładu olejek Nirgundi, ekstrahowany z liści krzewu *Vitex negundo* L. (*Verbenaceae*), stosowany jest od wieków w medycynie ludowej jako środek przeciwdrobnoustrojowy, przeciwkaszlowy, przeciwbólowy, diuretyczny, Szeroko znane są także jego właściwości przeciwreumatyczne i przeciw cukrzycowe [2,3].

Celem pracy była analiza aktywności olejku eterycznego Nirgundi wobec izolatów drobnoustrojów, które stanowiły czynnik etiologiczny infekcji ran i owrzodzeń o różnej etiologii oraz szczepów wzorcowych. Właściwości przeciwdrobnoustrojowe (MIC/MBC) olejku wobec 10 izolatów bakterii potwierdzonych jako czynniki etiologiczne infekcji ran, zaklasyfikowanych do rodzajów *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Escherichia*, *Proteus* oraz 2 szczepów referencyjnych *S. epidermidis* ATCC 12228, *E. coli* ATCC 10538 oznaczono *in vitro* metodą mikrorozcieńczeń. Efektywność działania olejku przedstawiono jako współczynnik MBC/MIC, w którym stosunek $MBC/MIC \leq 4$ oraz $MBC/MIC > 4$ określono odpowiednio jako działanie bakteriobójcze i bakteriostatyczne. Zbadano także właściwości antyoksydacyjne badanego olejku metodą redukcji wolnego rodnika DPPH* oraz zbadano czy olejek może działać wobec wybranych szczepów bakterii synergistycznie z wybranymi biocydami i antybiotykami rekomendowanymi w leczeniu tego typu infekcji (EUCAST i KORLD). Ponadto przeanalizowano wpływ badanego olejku na produkcję biofilmu przez wybrane szczepy bakterii.

Olejek Nirgundi wykazał się dobrą aktywnością wobec wszystkich badanych szczepów spośród, których testowano między innymi izolaty z mechanizmem oporności na antybiotyki typu MLSB konstytutywny, MRS_H/MRS_W i H_{LAR}. Aktywność przeciwdrobnoustrojowa olejku związana była w większości przypadków z jego działaniem bakteriostatycznym. Ponadto olejek Nirgundi powodował redukcję rodnika DPPH* oraz wraz z wybranymi antybiotykami i biocydami działał synergistycznie wobec niektórych izolatów. Wykazywał ograniczony wpływ na produkcję biofilmu przez wykorzystane do badań szczepy bakterii. Otrzymane wyniki badań zachęcają do dalszych analiz olejku Nirgundi pod kątem jego zastosowania w eradykacji bakterii infekujących rany i owrzodzenia.

Literatura

1. Uivaraseanu B., Bungau S., Tit D.M., Fratila O., Rus M., Maghiar T.A., Maghiar O., Pantis C., Vesa C.M., Dana Zaha C.; Clinical, Pathological and Microbiological Evaluation of Diabetic Foot Syndrome; Medicina 2020
2. Gill B.S., Mehra R., Naveet, Kumar S.; Vitex negundo and its medicinal value.; Mol Biol Rep. 2018 45
3. Kalita C., Raja D., Saikia A., Saikia A.K.; Antibacterial property of Azadirachta indica, Ocimum sanctum, and Vitex negundo against oral microbes.; J Conserv Dent. 2019 22

Ocena zdolności do tworzenia biofilmu przez bakterie *Staphylococcus hominis* izolowane z przypadków klinicznych.

Otylia Pała, Agata Majder, Maja Piotrkowska, Magdalena Szemraj, Monika Sienkiewicz

Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej i Diagnostyki Mikrobiologicznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Staphylococcus hominis jest przedstawicielem gronkowców koagulazoujemnych, w przeszłości uważanych za całkowicie niepatogenne, będących komensalami występującymi na ludzkiej skórze. Wraz z rozwojem metod diagnostycznych oraz ze względu na dane epidemiologiczne, zaczęto zwracać coraz większą uwagę na potencjał chorobotwórczy tych bakterii. Spośród wielu czynników, zdolność do wytwarzania biofilmu uznaje się za jedną z głównych przyczyn zakażeń szpitalnych, szczególnie u pacjentów z obniżoną odpornością. Udowodniono, że obecność biofilmu znacząco obniża wrażliwość szczepów bakteryjnych na konwencjonalną antybiotykoterapię.

Celem pracy było oznaczenie zdolności badanych bakterii do wytwarzania biofilmu, oraz ocena jego intensywności.

Badaniem objęto 62 szczepy *S. hominis* izolowane głównie z krwi od pacjentów hospitalizowanych. Zdolność do wytwarzania biofilmu oznaczano metodą barwienia fioletem krystalicznych na płytkach titracyjnych. Wyniki interpretowano zgodnie z przyjętą 4-stopniową skalą. Dla każdego szczepu wykonywano oznaczenie w trzech powtórzeniach.

Ponad połowa badanych szczepów produkowała biofilm. Niemniej poszczególne szczepy wykazywały różnice w poziomie jego produkcji. Blisko 10% szczepów nie posiadało tej zdolności.

Otrzymane wyniki pokazały, że tworzenie biofilmu jest cechą występującą u *S. hominis* z dużą częstością. Może to być jedna z przyczyn problemów w leczeniu infekcji powodowanych przez te bakterie. Konieczne są dalsze badania nad określeniem czynników sprzyjających jego powstawaniu.

STRESZCZENIA

MIKROBIOLOGIA PRZEMYSŁOWA

Wpływ bakteriofagów na jakość mikrobiologiczną mięsa

Patrycja Rowińska¹, Magdalena Efenberger-Szmechtyk²

Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Politechnika Łódzka

Bakteriofagi to wirusy atakujące komórki bakteryjne, często charakteryzujące się wysoką specyficznością – infekują określony gatunek, a nawet tylko szczep bakteryjny. Skuteczność fagów w eliminowaniu bakterii podatnych na infekcję prowadzi do zastosowania ich w przemyśle rolno spożywczym i szybkiego rozwoju produktów bakteriofagowych przeznaczonych do ochrony żywności. Stosowanie bakteriofagów nie powoduje korozji sprzętów i powierzchni w zakładach przetwarzających żywność oraz nie oddziałuje na właściwości sensoryczne produktów spożywczych. Bakteriofagi są ponadto bezpieczne dla człowieka. Dodatkowo wysoka ich specyficzność sprawia, że nie istnieje ryzyko eradykacji naturalnej [1,2].

Celem przeprowadzonego badania była ocena wpływu bakteriofagów na rozwój mikroflory psującej mięso. Wykonano izolację bakteriofagów z mięsa drobiowego specyficznych wobec następujących bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*: *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes* i *Proteus mirabilis*. W otrzymanych lizatach oznaczono miano fagów, a następnie przeprowadzono propagację aż do uzyskania liczebności fagów rzędu 10^8 PFU/ml. Następnie zbadano aktywność lizatów w różnych warunkach. Oznaczono stabilność bakteriofagów w pH =3, 5, 9 i 11 inkubując lizaty przez 2 godz w temperaturze 37°C. Bakteriofagi charakteryzowały się wysoką stabilnością w badanych pH, wykluczając pH 3. Największą stabilność zaobserwowano u fagów dla których gospodarzem jest *E. coli*. Oznaczono również stabilność lizatów w temperaturach 50°C, 60°C i 70°C w czasie 15 min i 60 min. Wyizolowane fagi charakteryzują się niską stabilnością w podwyższonych temperaturach. Już w 60°C można zauważyć znaczny spadek ich aktywności. Oznaczono wrażliwość różnych gatunków bakterii na lizaty fagowe oraz koktajl bakteriofagowy. Lizat specyficzny dla *E. coli* charakteryzował się najszerszym zakresem aktywności. Bakteriofagi hamowały wzrost *Salmonella* Enteritidis, *E. coli*, *E. aerogenes* oraz *Staphylococcus aureus*. Zbadano także wpływ koktajlu fagowego na liczebność wybranych grup mikroorganizmów w mięsie drobiowym inkubowanym w temperaturach 4 i 15°C. Przygotowano następujące próby: mięso drobiowe kontaminowane badanymi wcześniej bakteriami w stężeniu 10^3 CFU/g mięsa, mięso drobiowe kontaminowane badanymi wcześniej bakteriami w stężeniu 10^3 CFU/g mięsa + koktajl bakteriofagowy 10^7 PFU/g, mięso drobiowe + koktajl fagowy 10^7 PFU/g, mięso drobiowe bez dodatku bakterii ani fagów. W trakcie przechowywania oznaczano ogólną liczbę mikroorganizmów w 30°C, ogólną liczbę psychrotrofów i liczbę bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*.

1. Grygorcewicz B., Stachurska X. 2017. „Bakteriofagi jako środek ochrony żywności”. *Badania i Rozwój Młodych Naukowców w Polsce – Nauki przyrodnicze*, 34-39.

2. Kowalska M., Sokołowska B. 2016. „Wykorzystanie bakteriofagów w łańcuchu żywnościowym”. *ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość*, 4 (107): 26-36.

Zastosowanie grzybni grzybów wyższych do budowy lekkich materiałów izolacyjnych

Katarzyna Miśkiewicz¹, Dorota Gendaszewska¹, Beata Gutarowska²

¹Sieć Badawcza Łukasiewicz-Łódzki Instytut Technologiczny, ²Politechnika Łódzka

Zgodnie z Global Status Report for Buildings and Construction z 2019, budynki i budownictwo generują około 40 procent dwutlenku węgla, który przyczynia się do ocieplenia naszej planety. Jedna czwarta emisji pochodzi z produkcji materiałów i produktów budowlanych, takich jak szkło, cement i stal. Proces tworzenia tych materiałów wymaga bowiem bardzo dużo energii oraz konkretnych technologii, które nie tak łatwo zastąpić innymi bezemisyjnymi. W dobie kryzysu klimatycznego branża budowlana jest więc szczególnie zobowiązana do poszukiwania nowych, ekologicznych oraz neutralnych dla środowiska rozwiązań.

W badaniach przedstawionych w pracy podjęto próbę wytworzenia prototypu materiału konstrukcyjnego na bazie grzybni, grzybów z rodzaju *Pleurotus*. Grzybnie hodowano wstępnie na odpadach z przemysłu rolno-spożywczego, formowano w pożądaną kształt, a następnie prasowano i unieszkodliwiano wysoką temperaturą. Aby zapewnić jak największą wydajność wzrostu w celu zapewnienia jak największej wydajności wzrostu grzybni, hodowlę prowadzono w temperaturze i wilgotności optymalnej dla wzrostu danego gatunku grzyba. W celu utwardzenia ostatecznej struktury, zastosowano naturalny biopolimer o właściwościach hydrofobowych, którym pokrywano wytworzony materiał. Badania przeprowadzone w akredytowanym laboratorium wykazały, że wytworzone materiały na bazie grzybni osiągały wartość współczynnika przenikania ciepła U porównywalne z popularnie stosowanymi wyrobami, np. styropianem, wełną mineralną, szklaną lub skalną oraz stanowią cenne źródło składników odżywczych dla gleby. Pozbawione są również substancji niebezpiecznych.

W przyszłości takie materiały mogą stanowić alternatywę dla popularnie stosowanych w budownictwie tworzyw sztucznych. Ze względu na zdolność przyjmowania zadanej formy, z powodzeniem mogą być wykorzystywane także w przemyśle opakowaniowym, ogrodnictwym, do produkcji biodegradowalnych produktów ogrodnictwych, a podłoże po hodowli grzybów, ze względu na zawartość wielu cennych pierwiastków oraz aminokwasów może stanowić cenny nawóz dla rolnictwa.

Badania przedstawione w pracy powstały częściowo w ramach dotacji celowej pt.: „Technologie i rozwiązania materiałowo-konstrukcyjne z surowców odnawialnych dla budownictwa modułowego” 1/Ł-PIT/CŁ/2022.

Zastosowanie drożdży *Yarrowia lipolytica* w rewaloryzacji produktów ubocznych przemysłu spożywczego

Dominika Górniewicz, Dorota Kręgiel

Politechnika Łódzka
Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności
Katedra Biotechnologii Środowiskowej

Drożdże niekonwencjonalne z gatunku *Yarrowia lipolytica* charakteryzują się zdolnością do metabolizowania nietypowych substratów, produkcją kwasów organicznych, witamin, substancji bioaktywnych oraz wysoką aktywnością proteolityczną i lipolityczną. Unikalne cechy biochemiczne tych drożdży wskazują na ich duży potencjał w wielu procesach biotechnologicznych. W pracy zastosowano szczepy drożdży *Y. lipolytica* dla zdrożdżowania zróżnicowanych materiałów ubocznych przemysłu spożywczego. Badania wstępne obejmowały ocenę profili enzymatycznych i asymilacyjnych testowanych drożdży. Wszystkie szczepy *Y. lipolytica* charakteryzowały się wysokimi uzdolnieniami enzymatycznymi, w szczególności aktywnościami esteraz, lipaz, proteaz oraz glukozydaz. Wykazały one również dość szerokie spektrum zdolności asymilacyjnych, a najlepiej przyswajanymi źródłami węgla były, oprócz glukozy, glicerol oraz N-acetyloglukozamina. Szczep *Y. lipolytica* CCY 29-26-52-b o najszerszym spektrum asymilacji związków węgla i wysokich aktywnościach enzymatycznych, zastosowano do zdrożdżowania wybranych produktów ubocznych: oleju posmażalniczego oraz młota browarniczego. Jako substrat kontrolny zastosowano czysty glicerol, ze względu na silne uzdolnienia drożdży *Y. lipolytica* do asymilowania tego związku. Szczep drożdży wykazał bardzo dobry wzrost w pożywkach minimalnych zawierających olej posmażalniczy, glicerol oraz młoto, a poziom namnożenia komórek wyniósł od ok. 5×10^7 jtk/cm³ do 5×10^8 jtk/cm³. Najlepszy wzrost szczepu odnotowano w hodowlach z dodatkiem młota browarniczego. Obserwacje mikroskopowe wykazały zróżnicowanie morfologiczne komórek drożdży rosnących w obecności badanych materiałów ubocznych. Drożdże w obecności glicerolu oraz oleju rosły w postaci typowych owalnych lub okrągłych komórek, natomiast w hodowlach z wysłodzinami odnotowano dimorfizm morfologiczny, drożdże rosły także w postaci znacznie wydłużonych komórek tworzących pseudogrzybnię. Przeprowadzone badania wykazały, że drożdże *Y. lipolytica* mogą być wykorzystane do utylizacji bardzo złożonych i różnorodnych produktów ubocznych przemysłu spożywczego. Waloryzacja tych materiałów za pomocą drożdży może przyczynić się do rozwoju gospodarki o obiegu zamkniętym.

Poszukiwanie homologów strukturalnych białek wiążących c-di-GMP wśród proteomów bakterii z rodzaju *Komagataeibacter*

Paweł Marcinkowski¹, Agnieszka J. Pietrzyk-Brzezinska², Małgorzata Ryngajło²

1. Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Politechnika Łódzka,
2. Instytut Biotechnologii Molekularnej i Przemysłowej

Bakterie octowe z rodzaju *Komagataeibacter* od wielu lat są obiektem zainteresowania naukowców i technologów. Dzieje się tak dlatego, iż niektórzy przedstawiciele tego rodzaju bakterii wykazują zdolność do wydajnej produkcji bardzo użytecznego biomateriału, jakim jest celuloza bakteryjna. Synteza ta nie byłaby jednak możliwa bez udziału bakteryjnego, wtórnego przekaźnika informacji (*second messenger*), którym jest cykliczny diguanozynomonofosforan (c-di-GMP). Nukleotyd ten został opisany w *K. xylinus* jako cząsteczka łącząca się z domeną PilZ znajdującą się w podjednostce A syntazy celulozy (BcsA) co umożliwia produkcję tego biopolimeru. Dalsze badania pozwoliły stwierdzić, że c-di-GMP jest najważniejszym przekaźnikiem w królestwie bakterii i reguluje aktywność bardzo wielu białek bakteryjnych o szerokim spectrum działania. W większości są to białka posiadające domenę PilZ takie jak: enzymy, receptory, białka efektorowe oraz czynniki transkrypcyjne. Zatem zasadne jest przypuszczenie, że również u bakterii z rodzaju *Komagataeibacter* sieć regulatorowa związana z c-di-GMP obejmuje więcej białek niż tylko syntaza celulozy. W ostatnim czasie dostępność modeli struktur białkowych przewidzianych przez program AlphaFold2 otworzyła możliwość bioinformatycznego poszukiwania wśród proteomów bakterii z rodzaju *Komagataeibacter* strukturalnych homologów białek wiążących c-di-GMP.

Wstępne wyniki analiz bioinformatycznych umożliwiły wytypowanie trzech białek z *K. xylinus* oraz dwóch białek z *K. hansenii* (teraz *Novacetimonas hansenii*) podlegających regulacji przez c-di-GMP. Najciekawszym z nich wydaje się białko FixK z *K. hansenii*, ze względu na doniesienia literaturowe potwierdzające zaangażowanie białek z tej grupy w przeżywalność bakterii w warunkach niskiego stężenia tlenu. Te przewidywania pozwoliły na zaprojektowanie eksperymentów, których celem będzie nie tylko sprawdzenie czy białko to posiada zdolność wiązania c-di-GMP, ale również ocena, czy posiada ono funkcje podobne do funkcji innych białek z grupy FixK opisanych w literaturze. Najważniejsze wnioski dotyczące charakterystyki bioinformatycznej białka FixK zostaną przedstawione podczas wykładu.

Ekologiczny biopreparat do ochrony ziemniaka sadzeniaka przed fitopatogenami

Dominika Gibka, Aleksandra Steglańska, Beata Gutarowska

Katedra Biotechnologii Środowiskowej,
Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności
Politechnika Łódzka

Ziemniaki odgrywają istotną rolę na świecie. Fitopatogeny porażają bulwy ziemniaków skutkując niższymi plonami. W celu ochrony upraw i bulw stosuje się chemicznie syntetyzowane środki ochrony roślin, które mają negatywny wpływ na środowisko naturalne poprzez jego zanieczyszczenie i akumulację toksycznych związków w glebie przez wiele lat. Wraz z dyrektywami unijnymi, które prognozują wycofanie z użytku produktów chemicznych przeznaczonych do ochrony roślin pojawia się możliwość szukania alternatywnych środków ochrony roślin, które będą przyjazne dla środowiska naturalnego. Praca ma na celu opracowanie oraz optymalizację metody oraz krotności aplikacji preparatów na bazie mikroorganizmów drożdży *Metschnikowia pulcherrima* TK1, bakterii *Lactiplantibacillus plantarum* KB2 LAB 03, preparatu roślinnego na bazie czosnku i preparatu z chitozanu w celu zapobiegania rozwojowi wybranych fitopatogenów ziemniaka sadzeniaka, grzybów *Fusarium sambucinum* oraz bakterii *Pectobacterium carotovorum*. W ramach pracy sprawdzono trzykrotność dawkowania oraz dwie metody aplikacji biopreparatów: natrysk i zanurzenie. Po całym cyklu badań oceniono wizualnie poziom porażenia ziemniaków przez fitopatogeny oraz obliczono stopień zahamowania wzrostu patogenów przez zastosowane biopreparaty. Najlepsze zahamowanie odnotowano dla biopreparatu z chitozanu, który hamował w bardzo wysokim stopniu wzrost obu badanych drobnoustrojów. Drugim pod względem skuteczności był biopreparat z czosnku, który na bardzo wysokim poziomie hamował rozwój bakterii, natomiast grzyby zahamował na wysokim poziomie. Biopreparaty mikrobiologiczne na bazie szczepów drożdży *Metschnikowia pulcherrima* TK1 oraz bakterii *Lactiplantibacillus plantarum* KB2 LAB 03 okazały się najmniej skuteczne, uzyskały niskie zahamowanie badanych fitopatogenów.

Czynniki wpływające na przetrwalnikowanie środowiskowych izolatów bakterii z rodzaju *Bacillus* sp.

Artur Kołtuniak, Justyna Szulc, Beata Gutarowska

Katedra Biotechnologii Środowiskowej – Politechnika Łódzka

W ostatnich latach, zgodnie z trendami UE, poszukuje się alternatyw dla nawozów sztucznych w celu wspomaganie wzrostu roślin. Wiele uwagi skupiły biopreparaty o zdefiniowanym składzie, zawierające mikroorganizmy bezpieczne dla środowiska, ludzi i zwierząt. Stosowanie biopreparatów zawierających mikroorganizmy, mikro- i makroelementy, witaminy i hormony roślinne może znacznie zwiększyć zdolność pobierania pierwiastków niedostępnych dla roślin i zapobiec procesowi gnicia gleby, a także przyspieszyć rozkład resztek poźniwnych w glebie.

Celem badań jest opracowanie wydajnej procedury otrzymania przetrwalników dla wybranych szczepów bakterii z rodzaju *Bacillus* z przeznaczeniem na biopreparat do rozkładu resztek poźniwnych w glebie. Zakładana jest wysoka wydajność uzyskania przetrwalników na poziomie liczby komórek wegetatywnych 10^9 - 10^{10} jtk/ml ze średnią zawartością % spor w hodowli na poziomie 80-90%.

Badania obejmowały skryning izolatów środowiskowych bakterii z rodzaju *Bacillus* pod względem aktywności celulolitycznej i lignolitycznej, następnie określono dynamikę wzrostu oraz przetrwalnikowania wybranych drobnoustrojów. Obserwacje wykazały wysoki stopień rozkładu celulozy w medium, jednakże brak aktywności lignolitycznej. Wybrane drobnoustroje cechowały się zadowalającym stopniem namnożenia w pożywce wzrostowej TSB (10^8 – 10^9 jtk/ml), ale niskim współczynnikiem produkcji sporów (<1%). Wyniki porównano z wydajnością w pożywce sporulacyjnej SS, używanej w celu uzyskania przetrwalników *Bacillus* (liczba sporów większa o 3-4 rzędy wielkości). Ponadto sporządzono krzywe przeżycia, aby określić odporność mikroorganizmów na wysoką temperaturę (50, 55, 60 °C). W dalszych badaniach brano pod uwagę różne warianty pożywek do hodowli komórek wegetatywnych bakterii, uwzględniając organiczne i nieorganiczne źródła węgla i azotu (m.in. sacharoza, maltodekstryna, białko grochu, ekstrakt sojowy, trehaloza), sole nieorganiczne oraz dodatki do pożywki hodowlanej stymulujące sporowanie, takie jak: ryboza, octan sodu, CaCl_2 , bursztynian sodu, kwas glutaminowy. Dobór składników podłoża dokonano w oparciu o parametry: % przetrwalników, plon biomasy, szybkość wzrostu. Badania obejmowały też ocenę wpływu wybranych czynników na zwiększenie sporowania w trakcie hodowli bakterii (pH i temperatura).

Badania prowadzone są w ramach projektu: Innowacyjna technologia i organizacja uprawy kukurydzy wsparta biologicznie, ARMiR, nr 00077.DDD.6509.00167.2022.05.

Zagospodarowanie kukurydzy i łubinu na cele paszowe

Barbara Płacheta¹, Ilona Motyl², Joanna Berłowska²

Katedra Biotechnologii Środowiskowej, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Interdyscyplinarna Szkoła Doktorska Politechniki Łódzkiej, Wólczańska 171/173, 90-924 Łódź¹,
Katedra Biotechnologii Środowiskowej, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Politechnika Łódzka, Wólczańska 171/173, 90-924 Łódź²

Popyt na żywność pochodzenia zwierzęcego wzrasta wraz ze wzrostem liczby ludności. Produkcja wysokiej jakości produktów rolniczych wymaga ochrony środowiska, zdrowia ludzi oraz zdrowia i dobrostanu zwierząt. Zrównoważone rolnictwo polega na minimalizowaniu odpadów, a jednym ze sposobów wykorzystania roślinnych odpadów jest produkcja fermentowanej paszy dla zwierząt. Wykorzystanie fermentowanej paszy jako dodatku do pasz poprawia zdrowie zwierząt i jakość produktów odzwierzęcych. Fermentacja zmniejsza ilość antyodżywczych substancji

w karmie, poprawia trawienie i mikroflorę jelitową oraz wpływa na redukcję produkcji metanu. Dobrymi substratami wykorzystywanymi do produkcji pasz i kiszzonek fermentowanych dla zwierząt są kukurydza oraz łubin wąskolistny i żółty. Kukurydza jest wysoce energetycznym pokarmem wykorzystywanym do produkcji zwierzęcej, posiada stosunkowo wysoką zawartość białka, tłuszczów oraz sprzyjających fermentacji węglowodanów. Łubin z kolei jest jedną z najbogatszych w białko roślin o składzie aminokwasowym podobnym do soi, ale jego uprawa jest znacznie mniej szkodliwa dla środowiska od uprawy soi, dodatkowo jest też wykorzystywany jako zielony nawóz wzbogacający glebę w azot, a przy tym ułatwiający przesiąkanie wody i napowietrzający glebę poprzez rozwinięty system korzeniowy, a do tego poprawiający jej strukturę.

Celem prac było wyselekcjonowanie szczepów bakterii fermentacji mlekowej, których zastosowanie pozwoliło na otrzymanie fermentowanej, wysokobiałkowej paszy dla zwierząt monogastrycznych z wykorzystaniem kukurydzy i łubinu.

Zakres prac obejmował przeprowadzenie fermentacji spontanicznej śruty nasion kukurydzy, łubinu wąskolistnego, łubinu żółtego oraz mieszanki kukurydzy i łubinu, przeprowadzenie fermentacji kontrolowanej z wykorzystaniem wybranych szczepów bakterii fermentacji mlekowej wyizolowanych z prób środowiskowych, oznaczenie w fermentowanej biomacie zawartości suchej masy i udziału białka w suchej masie, sprawdzenie pH oraz kwasowości ogólnej. Po wykonaniu oznaczeń wybrano szczepy bakterii, których zastosowanie wpłynęło na otrzymanie kiszzonek o parametrach zgodnych z wymaganiami jakościowymi pasz.

Sucha śruta nasion kukurydzy oraz łubinu zawiera liczne bakterie fermentacji mlekowej dzięki czemu może być fermentowana na drodze fermentacji spontanicznej. Kiszzonki otrzymane na drodze fermentacji kontrolowanej z wykorzystaniem wybranych rodzajów bakterii fermentacji mlekowej (*Levilactobacillus*, *Pediococcus*, *Lactococcus* oraz *Leuconostoc*) różniły znacznie. Najwięcej kiszzonek o parametrach spełniających wymagania paszowe pochodziło z prób wykonanych z wykorzystaniem bakterii z rodzaju *Levilactobacillus*.

Określenie potencjału wybranych szczepów bakterii kwasu mlekowego do przygotowania roślinnych substytutów fermentowanych produktów mlecznych

Maria Prylińska, Katarzyna Dybka-Stępień

Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechniki Łódzkiej

Roślinne substytuty mleka i fermentowanych produktów mlecznych stają się coraz bardziej popularne wśród konsumentów ze względu na zmieniające się trendy żywieniowe, występujące coraz częściej alergie pokarmowe oraz ze względów etycznych w trosce o dobrostan zwierząt. Skład chemiczny oraz właściwości napojów roślinnych będących analogami mleka różnią się w zależności od surowca użytego do ich produkcji. Dlatego w produkcji tego rodzaju napojów ogromną rolę ma dobór odpowiednich szczepów do przygotowania roślinnych substytutów fermentowanych produktów mlecznych.

Celem pracy była charakterystyka szczepów bakterii kwasu mlekowego i określenie ich potencjału do przygotowania roślinnych substytutów fermentowanych produktów mlecznych. Dla 10 wyizolowanych ze środowiska szczepów bakterii kwasu mlekowego określono m. in. cechy wzrostu na podłożu płynnym i stałym, temperatury kardynalne, zdolność kwasotwórczą, aktywność amylolityczną, proteolityczną, esteraz i lipolityczną, z wykorzystaniem testu API 50 CHL określono profil metabolizmu węglowodanów. Przygotowano fermentowane napoje roślinne z wykorzystaniem dwóch szczepów *Lactiplantibacillus pentosus* L52 i *Levilactobacillus brevis* L50 wybranych na podstawie przeprowadzonej charakterystyki. Fermentowaną matrycą żywnościową były napoje roślinne - ryżowy, owsiany oraz sojowy. Proces fermentacji prowadzono przez 24 godziny, w temperaturze 30°C. W przygotowanych roślinnych substytutach fermentowanych produktów mlecznych dokonano pomiaru pH oraz określono stopień przeżywalności szczepów bakterii kwasu mlekowego podczas ich chłodniczego przechowywania.

Wykazano, że badane szczepy bakterii kwasu mlekowego posiadają cechy, umożliwiające wykorzystanie ich do przygotowania roślinnych substytutów fermentowanych produktów mlecznych, m. in. cechują się aktywnością enzymów proteolitycznych oraz zróżnicowanym metabolizmem węglowodanów. Ponadto, badane szczepy bakterii kwasu mlekowego, wykorzystane do fermentacji napojów roślinnych charakteryzują się wysokim stopniem przeżywalności w otrzymanych napojach przechowywanych w warunkach chłodniczych.

Bakterie jako źródło barwników karotenoidowych

Martyna Mistrzak, Anna Otlewska

Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Politechnika Łódzka,
ul. Wólczańska 171/173, 93-530 Łódź

Z upływem czasu widzimy wzrastające zainteresowanie barwnikami pochodzenia mikrobiologicznego, głównie z uwagi na bezpieczeństwo ich stosowania oraz posiadanie cennych właściwości biologicznych. Dodatkowo warto zauważyć, że coraz więcej ludzi staje się zwolennikami wszelkich inicjatyw na rzecz ochrony środowiska. Dlatego też naturalne barwniki zyskują kolejną pozytywną właściwość ze względu na ich biodegradowalność oraz nieszkodliwy wpływ na środowisko w przeciwieństwie do ich syntetycznych zamienników.

Celem badań była identyfikacja bakterii oraz ich charakterystyka pod kątem zdolności do produkcji barwników. Identyfikację szczepów przeprowadzono metodami biologii molekularnej w oparciu o analizę sekwencji nukleotydowych genu 16S rRNA. DNA z bakterii wyizolowano przy użyciu zestawu GeneMATRIX Tissue & Bacterial DNA Purification Kit. Gen 16S rRNA amplifikowano z zastosowaniem uniwersalnych starterów 27F i 1492R, a otrzymane produkty analizowano metodą elektroforezy w żelu agarozowym. Ekstrakcję barwników z komórek wykonano przy użyciu mieszaniny acetonu i metanolu w połączeniu z działaniem ultradźwiękami. Profil wyekstrahowanych barwników oznaczono również metodą chromatografii cienkowarstwowej.

Wśród badanych bakterii produkujących barwniki dominowały szczepy należące do rodzaju *Curtobacterium* (*Curtobacterium herbarum*, *Curtobacterium flaccumfaciens*, *Curtobacterium citreum* i *Curtobacterium oceanosedimentum*) oraz gatunków *Rhodococcus corynebacterioides*, *Plantibacter flavus* i *Microbacterium testaceum*. Większość bakterii wytwarzała barwniki z grupy karotenoidów, natomiast każdy z badanych szczepów bakterii charakteryzował się unikalnym profilem wytwarzanych barwników zależnym od zastosowanych parametrów hodowli.

Synergizm metod ekstrakcji w pozyskiwaniu barwników karotenoidowych pochodzenia mikrobiologicznego

Michalina Jankowska, Katarzyna Rajkowska, Anna Otlewska

Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Politechnika Łódzka

W związku ze stale rosnącym zapotrzebowaniem na barwniki z grupy karotenoidów, poszukiwane są naturalne, ekonomicznie dostępne, nowe źródła ich pozyskiwania. Odpowiedzią na te potrzeby mogą być barwniki pochodzenia mikrobiologicznego, w tym te pozyskiwane z komórek drożdży. Dominująca obecnie chemiczna synteza barwników karotenoidowych związana jest z wytwarzaniem produktów ubocznych, które mogą być toksyczne dla człowieka. W związku z tym w przemyśle biotechnologicznym poszukuje się metod, które nie tylko opierają się o ekstrakcję barwników ze źródeł naturalnych, ale również ograniczają zużycie toksycznych ekstrahentów.

Celem badań było opracowanie wydajnej metody pozyskiwania karotenoidów z komórek drożdży z użyciem czynników termicznych, fizycznych oraz chemicznych o niskiej toksyczności zarówno dla środowiska, jak i człowieka.

W badaniach zastosowano 9 środowiskowych szczepów drożdży należących do gatunków *Meyerozyma guilliermondii*, *Cystobasidium laryngis*, *Curvibasidium pallidicorallinum*, *Cystobasidium laryngis*, *Cystobasidium psychroaquaticum*, *Melampsora larici-populina* i *Rhodotorula glutinis*. Przetestowano 31 różnych warunków lizy i ekstrakcji barwników karotenoidowych z komórek drożdży, stosując metody chemiczne (dimetylosulfotlenek, 10% chlorek sodu, aceton, Triton X-100, 0,4% wodorotlenek sodu, 10% dodecylosiarczan sodu, metanol, 36% kwas mlekowy, 24% kwas octowy, 15% kwas solny), mechaniczne (kulki ceramiczne), fizyczne (sonifikacja), termiczne (wstępne mrożenie biomasy w temp. -20°C, działanie podwyższoną temp. 40, 55, 65°C) lub kombinację wspomnianych metod.

Najwyższą wydajność ekstrakcji pigmentów uzyskano po lizie chemicznej z użyciem 10% roztworu dodecylosiarczanu sodu w dimetylosulfotlenku, działaniu ultradźwiękami (35 kHz, 30 min., 55°C), inkubacji w temp. 55°C (16 godzin) oraz ekstrakcji acetonem (20 min., 22°C, z wytrząsaniem przy 2000 rpm). Zależnie od przynależności gatunkowej testowanych szczepów drożdży, w procesie ekstrakcji pozyskano różne barwniki z grupy karotenoidów, tj. torularhodynę, torulen i β -karoten.

Przeprowadzone badania umożliwiły dobranie warunków wydajnej ekstrakcji barwników karotenoidowych o największym potencjale zastosowania w przemysłowych procesach biotechnologicznego otrzymywania pigmentów.

Wpływ odpornej dekstryny na wybrane markery oddziaływania zdrowotnego w badaniach *in vitro*.

Włodarczyk M.¹, Śliżewska K.¹, Barczyńska-Felusiak R.², Kapuśniak J.²

¹ Politechnika Łódzka, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Wólczańska 171/173, 90-924

² Uniwersytet Humanistyczno-Przyrodniczy im. Jana Długosza w Częstochowie, Wydział Nauk Ścisłych, Przyrodniczych i Technicznych 42-200 Częstochowa al. Armii Krajowej 13/15

Celem badań było określenie wpływu odpornej dekstryny na markery oddziaływania zdrowotnego, tj. stężenie kwasu mlekowego, krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (SCFA) i rozgałęzionych kwasów tłuszczowych (BCFA) oraz na aktywność enzymów tzw. fekalnych. Markery te oznaczono w próbkach cieczy pohodowlanej z wspólnej hodowli bakterii jelitowych (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Escherichia coli*, *Bacteroides* i *Enterococcus*) wyizolowanych od dzieci otyłych oraz o prawidłowej masie ciała.

Stężenia kwasu mlekowego, SCFA (mrówkowego, octowego, propionowego, masłowego, walerianowego), BCFA (izowalerianowego oraz izomasłowego) badano metodą HPLC. Zastosowano następujące parametry procesu: kolumna Aminex HPX- 87H (BioRAD, USA), eluent 0,005 M kwas siarkowy, przepływ 0,6 ml/min, objętość próby 10 µl, detektor UV. Aktywność wybranych enzymów fekalnych (α -glukozydazy, β -glukozydazy, α -galaktozydazy, β -galaktozydazy, β -glukuronidazy) została określona metodą spektrofotometryczną (spektrofotometr Ray Leigh UV 2601, Chiny) w reakcji uwolnienia cząsteczki p-nitrofenolu.

Porównanie metabolitów fermentacji odpornej dekstryny oraz kontrolnie glukozy przez wybrane szczepy bakterii jelitowych wykazało zauważalnie zwiększone stężenia SCFA, przy równocześnie zmniejszonym stężeniu BCFA w badanych próbkach. Największe różnice zaobserwowano dla kwasu mlekowego oraz kwasu octowego, którego stężenie znacząco wzrosło w hodowli z oporną dekstryną w porównaniu z hodowlą kontrolną. Ponadto podczas hodowli bakterii w podłożu z oporną dekstryną w porównaniu z hodowlą z dodatkiem glukozy znacząco obniżyło się stężenie potencjalnie mutagennych enzymów fekalnych tj. β -glukozydazy, β -glukuronidazy. Wpływ na pozostałe enzymy również był zauważalny, jednak obniżenie aktywności było mniejsze niż w przypadku ww. enzymów.

Przeprowadzone badania sugerują, że badana oporna dekstryna może być skutecznie wykorzystywana przez wybrane szczepy bakterii jelitowych produkcji kwasu mlekowego oraz SCFA, równocześnie zmniejszając stężenie BCFA, wykazując zatem właściwości prebiotyczne. Jednocześnie wykazano pozytywny wpływ odpornej dekstryny na aktywności enzymów fekalnych, w szczególności na obniżenie aktywności enzymów potencjalnie mutagennych.

Grant POIR.04.01.02-00-0102/17-00 pt. „Opracowanie i wdrożenie innowacyjnej technologii produkcji przetworów warzywno-owocowych nowej generacji wzbogaconych błonnikowym preparatem ze skrobi ziemniaczanej o właściwościach prebiotycznych z przeznaczeniem dla dzieci i młodzieży”.

Potencjał przemysłowy endofitów bakteryjnych z przytulii czepnej (*Galium aparine* L.)Natalia Rutkowska¹, Aleksandra Nadziejko, Magdalena Rodziewicz, Olga Marchut-Mikołajczyk²¹Interdyscyplinarna Szkoła Doktorska, Politechnika Łódzka²Instytut Biotechnologii Molekularnej i Przemysłowej, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Politechnika Łódzka

Endofity bakteryjne to mikroorganizmy bytujące we wnętrzu rośliny, nie wywołujące przy tym objawów chorobowych. Czerpią korzyści z tej relacji w postaci ułatwionego dostępu do składników odżywczych oraz ochrony przed niekorzystnymi czynnikami zewnętrznymi; w zamian produkując związki kluczowe dla prawidłowego wzrostu i rozwoju rośliny. Na skutek długiej egzystencji w roślinie, endofity mogą także uzyskać zdolność do wytwarzania związków charakterystycznych dla danej rośliny *in vitro*.

Biologicznie aktywne związki wytwarzane przez endofity mogą znaleźć nie tylko zastosowanie w rolnictwie jako stymulatory wzrostu roślin uprawnych, lecz również w medycynie, przemyśle farmaceutycznym lub kosmetycznym. Badania realizowane w Instytucie Biotechnologii Molekularnej i Przemysłowej PŁ skupiają się głównie na określeniu potencjału przemysłowego endofitów bakteryjnych wyizolowanych z przytulii czepnej (łac. *Galium aparine*), w tym do produkcji kwasu indolo-3-octowego, giberelin, sideroforów oraz enzymów hydrolitycznych, a także charakterystycznych dla tej rośliny polifenoli i terpenoidów.

Aktywność komercyjnie dostępnych kosmetyków wobec szczepów *Cutibacterium acnes*

Aleksandra Zielińska¹, Paweł Lisiecki²

¹ Koło Naukowe przy Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej i Diagnostyki Mikrobiologicznej, Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej i Diagnostyki Mikrobiologicznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, ul. Muszyńskiego 1, 90-151 Łódź

Do przyczyn powodujących trądzik pospolity możemy zaliczyć: łojotok, hiperkeratynizację gruczołów włosowo-łojowych, czynniki hormonalne oraz kolonizację jednostek łojowych przez bakterie *Cutibacterium acnes*. W leczeniu trądziku rekomendowane są preparaty do stosowania miejscowego: antybiotyki, pochodne witaminy A, kwas azelainowy oraz nadtlenek benzoilu. W ciężkich postaciach trądziku stosuje się antybiotyki działające ogólnie oraz doustną postać pochodnej witaminy A. Skóra trądzikowa wymaga także właściwej, kompleksowej i systematycznej pielęgnacji. Przemysł kosmetyczny oferuje ogromną paletę preparatów kosmetycznych do pielęgnacji cer trądzikowych. W deklaracjach marketingowych tych produktów można znaleźć informacje o ich aktywności wobec *C. acnes*. W większości przypadków ta właściwość kosmetyku nie jest potwierdzona badaniami mikrobiologicznymi.

Celem pracy było zbadanie *in vivo* zdolności do hamowania wzrostu *C. acnes* przez 5 komercyjnie dostępnych kosmetyków (mikrozłuszczący tonik do twarzy, punktowe plastry na stany zapalne, żel do stosowania punktowego, krem do stosowania miejscowego i krem do twarzy) na opakowaniu, których producent deklaruje taką ich właściwość.

W badaniach wykorzystano 11 szczepów *C. acnes*. Cztery z nich wyizolowano ze zdrowej skóry ludzi, sześć ze skóry ze zmianami trądzikowymi i jeden ATCC 11827 pochodził z kolekcji międzynarodowej. Oznaczenia wykonano metodą dyfuzyjno-krażkową zgodnie z rekomendacjami EUCAST. W pierwszym etapie badań określono wrażliwość szczepów na antybiotyki a w drugim zdolność do hamowania wzrostu szczepów przez badane kosmetyki.

Wszystkie badane szczepy wykazały wrażliwość na klindamycynę, tetracyklinę i erytromycynę antybiotyki wykorzystane w leczeniu trądziku. Krem do stosowania punktowego wykazał najlepszą aktywność wobec badanych szczepów. Słabą aktywność wykazały: tonik do twarzy i żel do stosowania punktowego. Dwa kosmetyków nie były aktywne wobec badanych szczepów (punktowe plastry, krem nawilżający).

Ocena właściwości przeciwdrobnoustrojowych kosmetyków powinna opierać się na rzetelnie przeprowadzonych badaniach mikrobiologicznych. Rozbudowane i bardziej wyszukane deklaracje marketingowe, nie zawsze prawdziwe, zwiększają u konsumentów zainteresowanie produktem, co zwiększa zyski wytwórców. Jednak takie działania producentów kosmetyków należy traktować jak nieuczciwe.

STRESZCZENIA

MIKROBIOLOGIA OGÓLNA I ŚRODOWISKOWA

Fitopatogeny ziaren pszenicy i kukurydzy

Tomasz Szczygieł, Anna Otlewska, Anna Koziróg

Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Politechnika Łódzka,
ul. Wólczańska 171/173, 93-530 Łódź

Fitopatogeny stanowią poważne zagrożenie zarówno dla ziaren lub nasion podczas kiełkowania, jak i dla roślin na każdym etapie wzrostu i wegetacji. Do zakażenia ziaren oraz różnych części roślin może dochodzić również podczas procesu przechowywania. Zakażenie fitopatogenami powoduje obniżenie jakości plonów, co z kolei prowadzi do ogromnych strat ekonomicznych wynikających z konieczności usuwania zakażonych roślin lub ziaren.

Celem badań była izolacja oraz identyfikacja grzybów (pleśni i drożdży) będących potencjalnymi fitopatogenami z ziaren pszenicy i kukurydzy. Identyfikację grzybów wykonano klasycznymi metodami mikrobiologicznymi w oparciu o porównanie cech makroskopowych i mikroskopowych z kluczami diagnostycznymi. Ponadto przeprowadzono analizy sekwencji nukleotydowych regionów ITS otrzymanych w wyniku amplifikacji metodą PCR.

Żarówno ziarna kukurydzy, jak i pszenicy były zanieczyszczone grzybami. Na ziarnach pszenicy dominowały pleśnie należące do rodzajów *Penicillium* (*P. commune*, *P. jensenii*), *Trichoderma* (*T. atroviride*, *T. harzianum*), *Aspergillus* (*A. chevalieri*) i *Fusarium* (*F. verticillioides*). Z ziaren kukurydzy izolowano pleśnie *Aspergillus* spp. (*A. amstelodami*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*) i *Fusarium* spp. (*F. verticillioides*, *F. graminearum*) oraz drożdże z gatunków *Anthracystis flocculosa* i *Hyphopichia burtonii*. Wśród wyizolowanych szczepów zidentyfikowano gatunki uznane według danych literaturowych za patogeny roślin m. in. *F. graminearum*, *F. verticillioides*, ale również gatunki np.: *T. atroviride*, *T. harzianum* wykorzystywane do ochrony roślin przed fitopatogenami.

Badanie skuteczności filtrów węglowych do wody pitnej w zatrzymywaniu pałeczek *Escherichia coli*

Kamila Kwietniewska¹, Antoni Łykowski¹, Magdalena Moryl²

¹ Studenckie Koło Naukowe Mikrobiologiczno – Immunologiczne, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

² Katedra Biologii Bakterii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

Stosowanie dzbanków z filtrami węglowymi zyskało w ostatnim czasie dużą popularność w gospodarstwach domowych. Filtry stosowane są w celu poprawy walorów smakowych, częściowej redukcji twardości wody, czy ze względów ekologicznych. Ich działanie opiera się na adsorbujących właściwościach węgla aktywnego, który zatrzymuje zanieczyszczenia i uniemożliwia ich przedostanie się do wody. Do powierzchni węgla mogą też adsorbować się drobnoustroje. W celu ochrony przed nadmiernym namnażaniem się drobnoustrojów producenci stosują węgiel aktywny impregnowany srebrem, które ma właściwości jedynie bakteriostatyczne, a nie bakteriobójcze. Dlatego na powierzchni filtra wciąż obecne są drobnoustroje, a używanie dzbanków niezgodnie z zalecaniami producenta przyspiesza ich namnażanie i może skutkować ich przedostawaniem do wody.

Celem badania jest sprawdzenie skuteczności filtrów węglowych w zatrzymywaniu bakterii względnie chorobotwórczych *Escherichia coli*, które są wskaźnikiem zanieczyszczenia wód.

W badaniach wykorzystano dwa szklane dzbanki jednej firmy oraz przeznaczone do nich filtry z węglem aktywnym. Przed użyciem filtry węglowe moczone przez 10 min. w jałowej wodzie w temperaturze pokojowej (próba kontrolna). W celu sprawdzenia wpływu różnych warunków przygotowania filtrów na ich skuteczność część z filtrów moczona była odpowiednio w: wodzie gorącej 95°C, wodzie o pH kwasowym (≤ 2), wodzie o pH zasadowym (≥ 10). Przez filtry dwukrotnie filtrowano 100 ml wody zawierającej pałeczki *E. coli* o gęstości 1×10^3 CFU/ml. Wodę pofiltracyjną rozcieńczano i wysiewano na podłoża stałe (agar z ekstraktem drożdżowym) celem obliczenia liczby jednostek koloniotwórczych w 100 ml wody. Dodatkowo oceniano liczbę *E. coli* w wodzie przed filtracją.

Filtry węglowe charakteryzowały się zdolnością do częściowej adsorpcji pałeczek *E. coli*. W próbie kontrolnej (filtr nieuszkodzony) skuteczność złoża w zatrzymywaniu bakterii *E. coli* przy pierwszej i drugiej filtracji była porównywalna i wynosiła ok. 50%. Spośród badanych czynników największy wpływ na efektywność filtracji miało zasadowe pH. 10-minutowe namaczanie filtra w roztworze o $\text{pH} \geq 10$ powodowało uszkodzenie złoża, w przypadku filtracji pierwszej zaadsorbowanych zostało 37% komórek *E. coli*, natomiast przy filtracji drugiej jedynie 10%. Działanie na filtr gorącą wodą lub roztworem o kwaśnym pH miało mniejszy wpływ na skuteczność filtracji.

Udział bakterii z rodzaju *Photobacterium* w psuciu mięsa ryb

Hubert Kłosiński

Wykonano w: Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, Politechnika Łódzka

Praca miała na celu określenie udziału bakterii z rodzaju *Photobacterium* w psuciu mięsa ryb. Rybie mięso składa się w dużej mierze z wody, białka oraz tłuszczu. Zawiera również witaminy i mikroelementy, co stanowi bogate środowisko dla rozwoju mikroorganizmów. Najczęstszą przyczyną psucia mięsa ryb są mikroorganizmy nie tylko stanowiące autochtoniczną mikrobiotę ryb, ale także te, które bytują w środowisku ich życia. Procesy psucia obejmować mogą degradowanie przez drobnoustroje białek, bądź tłuszczu do prostszych związków, ale także produkcję substancji toksycznych. Proces psucia mikrobiologicznego prowadzi do zmiany właściwości organoleptycznych produktu, który staje się niezdatny do spożycia.

Photobacterium sp. są znanym patogenem zwierząt. Mikroorganizmy te wytwarzają aminy biogenne takie jak histamina. Wykazują również aktywność proteaz i lipaz. Odpowiedzialne są za jedną z najniebezpieczniejszych chorób ryb. Polega ona na aktywacji szlaków apoptotycznych i wywołaniu posocznicy, prowadzącej do śmierci. Na działanie tych bakterii narażony jest również człowiek. Określenie udziału bakterii z rodzaju *Photobacterium* w psuciu mięsa ryb opierało się na charakterystyce morfologicznej i biochemicznej dominujących kolonii, wyrosłych na agarze morskim z wankomycyną. Wykonano również identyfikację genetyczną, polegającą na sekwencjonowaniu genu 16S RNA i porównaniu z sekwencjami zdeponowanymi w bazie GenBank. Dokonano określenia uzdolnień bioluminescencyjnych kolonii, różnicowania komórek przy pomocy barwienia Grama, wykonano testy aktywności katalazy i oksydazy. Przeprowadzono skrining uzdolnień proteolitycznych i lipolitycznych szczepów wyizolowanych z próbek mięsa ryb zakupionych w sklepach rybnych i sklepach sieciowych. W badanych próbkach nie stwierdzono obecności bakterii z rodzaju *Photobacterium*. Zidentyfikowano natomiast mikroorganizmy typowe dla środowiska morskiego, należące do rodzaju *Pseudomonas*, *Shewanella*, *Carnobacterium*, *Psychrobacter* i *Aeromonas*.

Wpływ metali ciężkich, herbicydów i mikroplastiku na produkcję sideroforów przez grzyby z rodzaju *Trichoderma*

Anastasiia Kulbachko^{1,2} Mirosława Słaba¹

1. Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, ul. Stefana Banacha 12/16, 90-237 Łódź

2. Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Studenckie Koło Naukowe Biotechnologiczno-Mikrobiologiczne, ul. Stefana Banacha 12/16, 90-237 Łódź

Zanieczyszczenie środowiska mikroplastikiem, herbicydami i metalami ciężkimi jest globalnym problemem. Istnieją alternatywne strategie eliminacji tych zanieczyszczeń, przyjazne dla środowiska, z udziałem drobnoustrojów. Grzyby z rodzaju *Trichoderma*, są wykorzystywane w biokontroli. Wytwarzanie sideroforów przez te grzyby (metabolity wtórne) jest ważne zarówno w procesie inhibicji wzrostu fitopatogenów, jak i promowania wzrostu roślin. Są to związki chelatujące, zdolne do wiązania i transportowania jonów metali, co zmniejsza ich toksyczność dla organizmów.

Celem pracy było określenia wytwarzania sideroforów przez grzyby z rodzaju *Trichoderma*, efektywnie eliminujące herbicydy, rosnące w hodowlach z metalami ciężkimi, herbicydami i mikroplastikiem.

Wytwarzanie sideroforów przez *Trichoderma* w zanieczyszczonym środowisku określano ilościowo z użyciem testu CAS (Chrome Azurol Sulphonate). Jest to uniwersalna metoda spektrofotometryczna ($\lambda=630$ nm), pozwalająca na wykrycie sideroforów niezależnie od ich budowy.

Założono hodowle *Trichoderma* z dodatkiem Cu^{2+} , Zn^{2+} (5 mM), metolachloru (50 mg/l), kwasu 2,4-dichlorofenoksyoctowego (50 mg/l) i mikroplastiku (2,5 g/l). Hodowle z metalem, herbicydem i mikroplastikiem dodanymi osobno, oraz układy zawierające dwa lub trzy związki dodane razem inkubowano w 28 °C przez 12 dni, pobierając co 4 dni próby do analizy.

Izolat *Trichoderma* T2 charakteryzował się efektywniejszą produkcją sideroforów w porównaniu do izolatu T4 (maksymalnie 79,5% w porównaniu do 53,3%). W hodowlach *Trichoderma* T4 można zaobserwować lepsze wytwarzanie sideroforów w starszych hodowlach. Zn^{2+} stymuluje wytwarzanie sideroforów przez szczep T4, natomiast Cu^{2+} hamuje ten proces u obu szczepów. Ponadto wykazano, że w hodowlach z zawierających metolachlor lub kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy, cynk i mikroplastik, dodany osobno lub w skojarzeniu siderofory nadal były wytwarzane.

Badany izolat T2 *Trichoderma* jest dobrym producentem sideroforów, co może być wykorzystane w ochronie roślin rosnących w zanieczyszczonym środowisku. Ponadto wykazano, że mikroplastik, Zn^{2+} , metolachlor i kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy nie hamują produkcji sideroforów, a w niektórych przypadkach nawet stymulują ich wytwarzanie.

Badania były finansowane z grantu Narodowego Centrum Nauki w Krakowie nr UMO 2020/39/B/NZ9/00471

Mikrobiologiczny rozkład włókien polipropylenowych w jednorazowych maseczkach ochronnych

Aleksandra Kośmider¹, Monika Jańczyk¹, Patrycja Kieszek¹, Tomasz Boruta², Olga Marchut-Mikołajczyk³, Małgorzata Szynkowska-Jóźwik, Małgorzata Ryngajło³

Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Studenckie Koło Naukowe Biotechnologów FERMENT, ul. Wólczańska 171/173, 90-924 Łódź;

2Wydział Inżynierii Procesowej i Ochrony Środowiska, Katedra Inżynierii Bioprocessowej, Politechnika Łódzka, ul. Wólczańska 213, 90-924 Łódź;

3Politechnika Łódzka, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Instytut Biotechnologii Molekularnej i Przemysłowej, ul. B. Stefanowskiego 2/22, 90-537 Łódź

Nieodpowiednie gospodarowanie odpadami jest globalnym problemem naszych czasów. Ogromne ilości produkowanych tworzyw sztucznych stanowią coraz większe zagrożenie dla środowiska naturalnego, a pandemia COVID-19 przyczyniła się do pogłębienia tego problemu. Od 2020 roku wyprodukowano ponad 7 miliardów masek ochronnych i do tej pory nie znaleziono sposobu ich efektywnej utylizacji. Głównym tworzywem, z którego są wykonywane, jest polipropylen (PP) - polimer węglowodorowy charakteryzujący się wysoką odpornością chemiczną. Wykorzystywany jest na szeroką skalę w przemyśle farmaceutycznym do produkcji sprzętu medycznego czy jednorazowych środków ochrony osobistej.

Nasz zespół postanowił przyjrzeć się problemowi zagospodarowania odpadów medycznych tj. jednorazowe maseczki ochronne, od strony biotechnologicznej. W badaniach skupiliśmy się na degradacji włókien polipropylenowych przy użyciu mikroorganizmów glebowych. Próbkę wystawioną uprzednio na ich działanie poddano analizie FTIR (spektroskopia fourierowska w podczerwieni), która wykazała zmiany w składzie chemicznym masek. Wykonano także zdjęcia tego materiału przy użyciu skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM). Dzięki temu zaobserwowano rozluźnienie struktur włókien PP oraz porośnięcie ich grzybnią. Stanowiło to podstawę do dalszego poszukiwania mikroorganizmów ze zdolnościami biodegradacyjnymi właśnie w tym środowisku.

Kolejnym etapem badań była izolacja metagenomowego DNA z gleby, w której maseczka uległa największym uszkodzeniom/przemianom. Wyizolowane DNA poddano sekwencjonowaniu 16S rRNA (region V3-V4) oraz ITS (ITS1-ITS2) za pomocą technologii sekwencjonowania nowej generacji (NGS). Sekwencjonowanie docelowych genów 16S rRNA, pozwala nam na opis i taksonomię bakterii, natomiast ITS na opis i taksonomię grzybów. Aktualnie, grupa projektowa zajmuje się opracowaniem wyników, które mogą stanowić podstawę do wytypowania szczepu występującego powszechnie w glebie i posiadającego cenne zdolności degradacji polipropylenu.