



**UNIwersytet Medyczny**  
**IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU**

Justyna Jadwiga Paleczny

**Ocena skuteczności wybranych środków  
przeciwdrobnoustrojowych względem  
*Staphylococcus aureus* i *Pseudomonas aeruginosa*  
hodowanych w warunkach imitujących środowisko  
ran i kości**

Evaluation of the effectiveness of selected antimicrobial agents against  
*Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*  
cultivated in conditions imitating the environment of wounds and bones

Rozprawa doktorska w oparciu o monotematyczny cykl publikacji w dziedzinie  
nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne

Promotor:  
Prof. dr hab. n. med. Marzenna Bartoszewicz

Katedra i Zakład Mikrobiologii  
Farmaceutycznej i Parazytologii

Wrocław 2023

## STRESZCZENIE W JEZYKU POLSKIM

Zakażenia bakteryjne związane z biofilmem stanowią jedno z największych wyzwań terapeutycznych ostatnich lat. Infekcje ran i kości są istotnym zagrożeniem dla zdrowia i życia pacjenta, szczególnie dla osób z obniżoną odpornością, cierpiących na cukrzycę lub zmagających się z otyłością. Wprowadzenie odpowiedniego leczenia przed rozwojem objawów ogólnoustrojowej infekcji jest kluczowe do uzyskania sukcesu terapeutycznego.

*Staphylococcus aureus* i *Pseudomonas aeruginosa* należą do gatunków bakterii najczęściej izolowanych z infekcji ran i kości. Ich wysoka zjadliwość uwarunkowana jest między innymi zdolnością do tworzenia biofilmu, który utrudnia penetrację środków przeciwdrobnoustrojowych do komórek. Na rozwój biofilmu wpływa szereg czynników fizycznych i chemicznych, w tym także dostępność składników odżywczych występujących w mediach hodowlanych. Do oceny skuteczności środków przeciwdrobnoustrojowych w warunkach laboratoryjnych stosuje się w przeważającej mierze wystandaryzowane pożywki hodowlane oraz proste metody *in vitro*, umożliwiające wykonanie analiz w stosunkowo krótkim czasie i niskim kosztem. Natomiast, w jakim stopniu wyniki uzyskane standardowymi metodami przekładają się na skuteczność preparatów przeciwbakteryjnych w miejscu infekcji pozostaje nie w pełni wyjaśnione.

Celem pracy była ocena wpływu warunków środowiska na wzrost drobnoustrojów oraz na skuteczność przeciwdrobnoustrojową i przeciwbiofilmową preparatów stosowanych w leczeniu infekcji ran i antybiotyków wykorzystywanych w leczeniu zakażeń kości.

Badania przeprowadzono z wykorzystaniem 3 szczepów wzorcowych oraz 50 szczepów klinicznych bakterii z gatunku *Staphylococcus aureus* i *Pseudomonas aeruginosa* izolowanych z infekcji ran i kości. Drobnoustroje hodowane były w 3 podłożach płynnych, które znacząco różniły się między sobą kompozycją składników odżywczych. Przebadano 7 preparatów stosowanych w leczeniu infekcji ran oraz 4 antybiotyki wykorzystywane w leczeniu bakteryjnych zakażeń kości. Do oceny skuteczności preparatów przeciwdrobnoustrojowych zastosowano szereg metod *in vitro*, począwszy od podstawowych metod płytkowych, poprzez modele imitujące środowisko ran czy kości, a także wykorzystano szeroki zakres specjalistycznej aparatury doświadczalnej.

Uzyskane wyniki wykazały, że dostępność składników odżywczych wpływała na aktywność metaboliczną drobnoustrojów oraz ich zdolność do tworzenia biofilmu. W warunkach imitujących środowisko infekcji, skuteczność środków przeciwdrobnoustrojowych była znacząco wyższa niż w standardowym medium hodowlanym.

Przedstawione w pracy wyniki wskazują na wysokie znaczenie stosowania modeli *in vitro*, które w jak najwyższym stopniu imitują środowisko infekcji, ze względu na dużą liczbę czynników warunkujących wzrost bakterii oraz skuteczność preparatów przeciwdrobnoustrojowych.

## STRESZCZENIE W JEZYKU ANGIELSKIM

### Abstract

Biofilm-associated infections are one of the most significant therapeutic challenges of recent years. Wound and bone infections are a major threat to a patient's health and life, especially for immunocompromised, diabetics, or obese. It is crucial to provide proper treatment before the symptoms of systemic infection develop in order to ensure successful therapy.

*Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* are the most commonly isolated bacterial species from wound and bone infections. Their high virulence is determined mainly by their ability to form a biofilm, which impedes the penetration of antimicrobial agents. Biofilm development is affected by a number of physical and chemical factors, including the accessibility to nutrients in the culture media. The efficacy of antimicrobial agents is evaluated chiefly using basic culture media and simple *in vitro* methods, which allow analyses in a relatively short time and at a low cost in diagnostic laboratories. Nonetheless, it is still unclear how conventional methods' results translate to the effectiveness of antimicrobial treatments at the site of infection.

This study aimed to evaluate the impact of environmental conditions on microbial growth and the antimicrobial and antibiofilm efficacy of antimicrobials used to treat wound infections and antibiotics applied in bone infections treatments.

For the research purpose, we used 3 reference strains and 50 clinical strains of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* bacteria isolated from wound and bone infections. The microorganisms were cultured in 3 liquid media with significantly different nutrient compositions. We tested 7 antimicrobials specifically for treating wound infections and 4 antibiotics for bacterial bone infections. To assess the effectiveness of the antimicrobial preparations, various *in vitro* methods were used. These methods included basic plate methods, models that imitated the wound or bone environment, and specialized devices that evaluated the impact of physical conditions on biofilm formation.

The metabolic activity of microorganisms and their ability to form a biofilm depended on the availability of nutrients. In a simulated infection setting, the efficiency of antimicrobial agents was found to be higher than in a typical culture medium. The findings presented in this dissertation emphasize the significance of utilizing *in vitro* models that closely resemble the infection environment because a dozen factors affect bacterial growth and the effectiveness of antimicrobial preparations.