

# Laboratoryjna kontrola systemów wodnych: „Quorum sensing“ ekosystemu



Dr. habil. Anna Salek,  
International-Bio-Consulting & DOMATEC GmbH, Niemcy

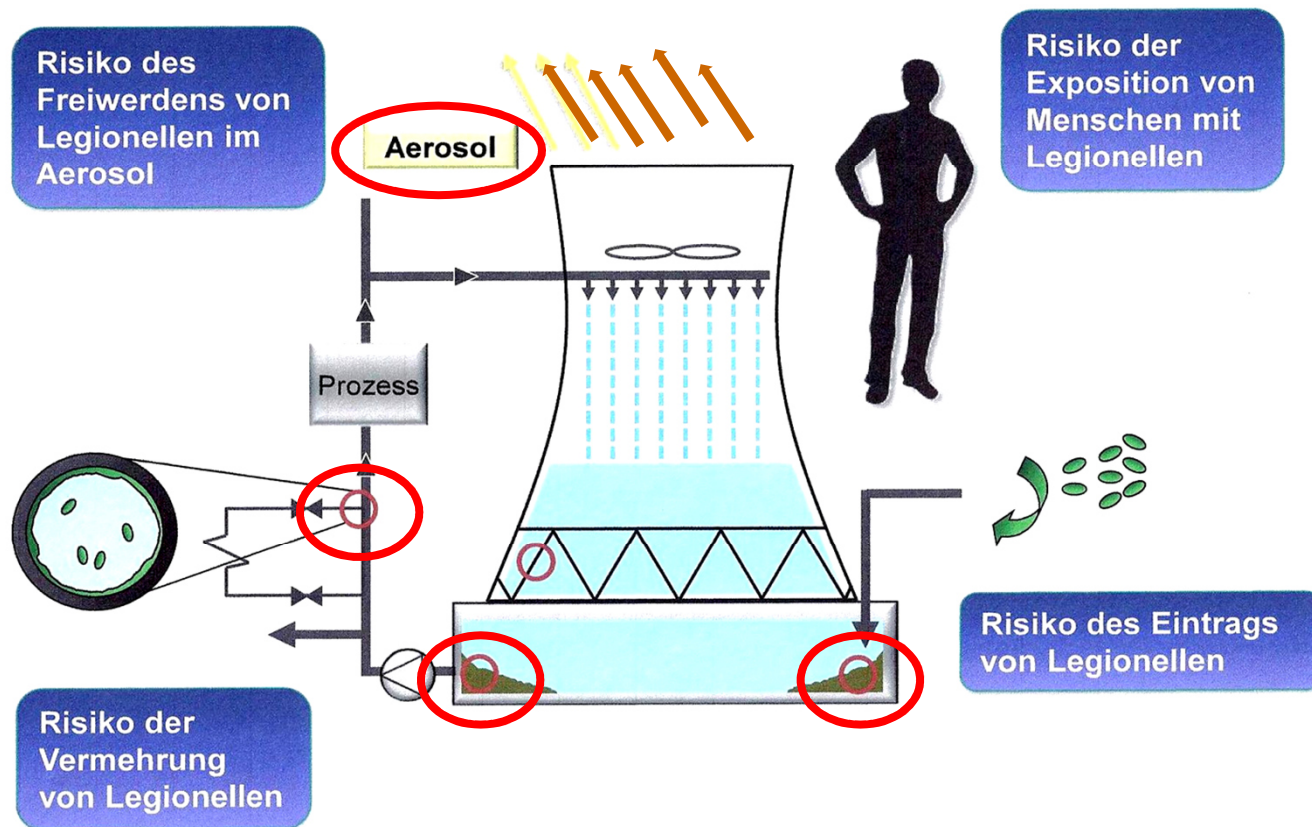
XVIII SzTF, 14-15.04.2016, Kocierz

## Chłodnicze systemy wodne w przemyśle



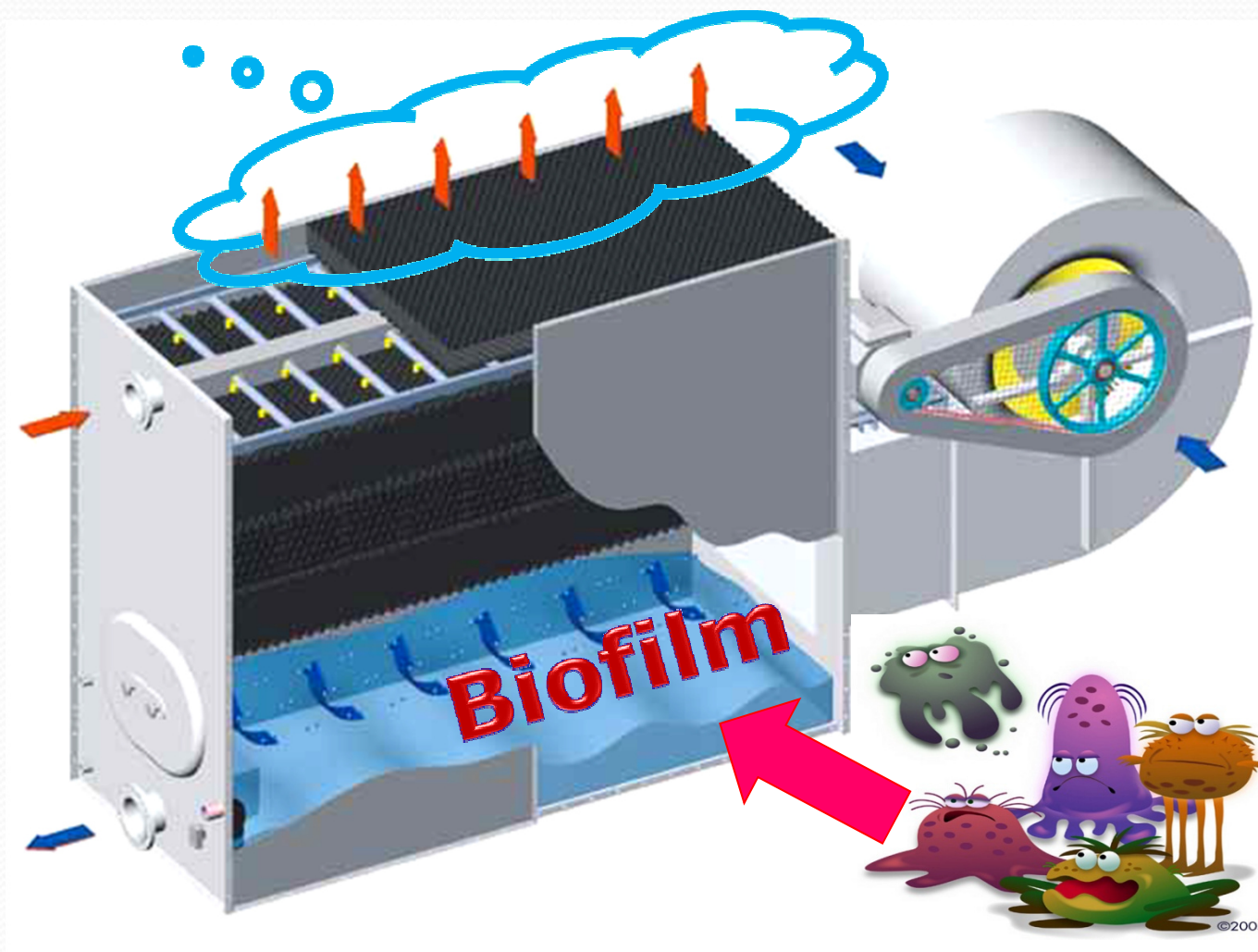
Kocierz, 14-15.04.2016

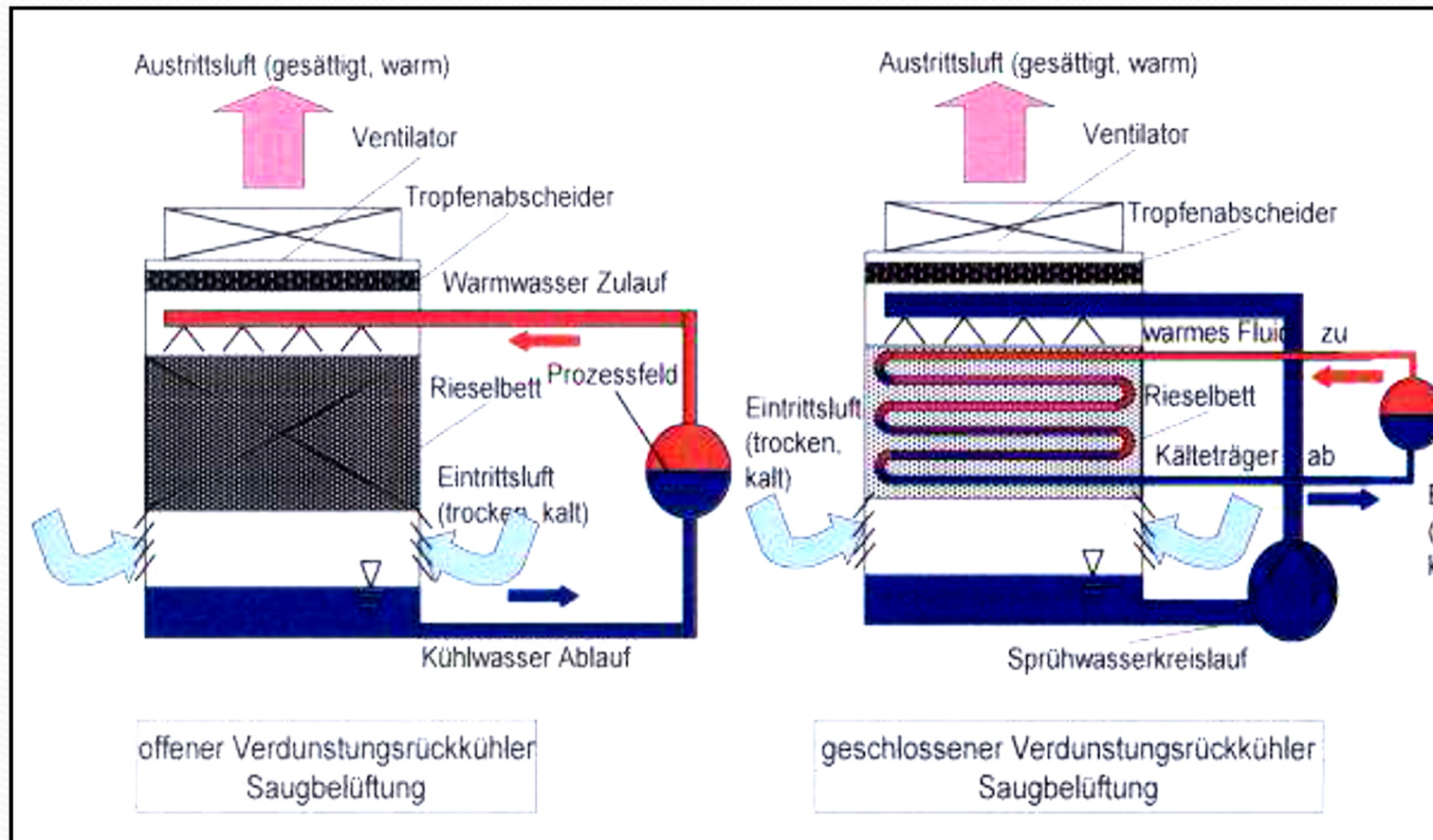
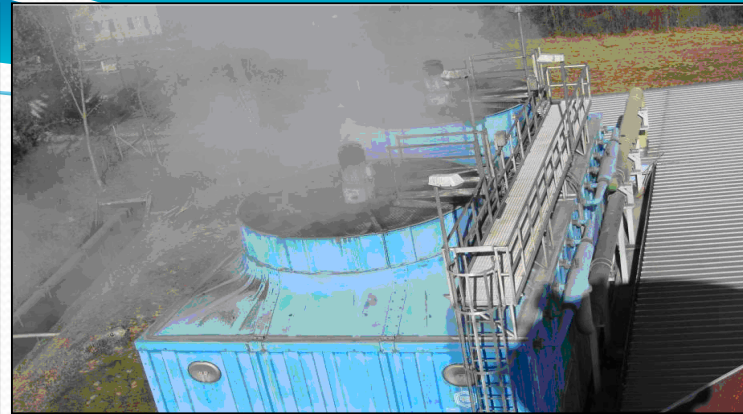
# Risiko infektion w przemysłowych systemach wodnych



Nach Dr. S. Schult, IWW-Kolloquium Mülheim

# Bezpośrednie chłodzenie w otwartym systemie krążenia wody

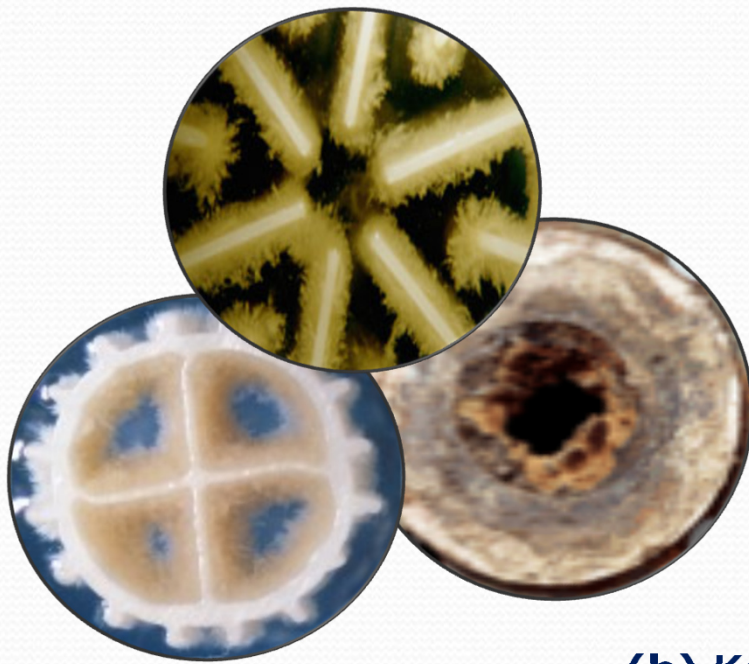




## Źródła infekcji w systemach z ciepłą wodą: aerosol i biofilm

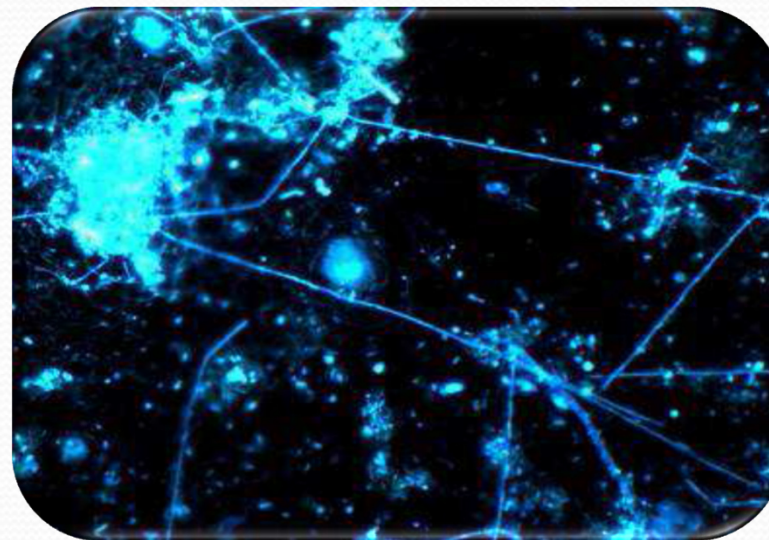
Typy biofilmu w technicznych systemach:

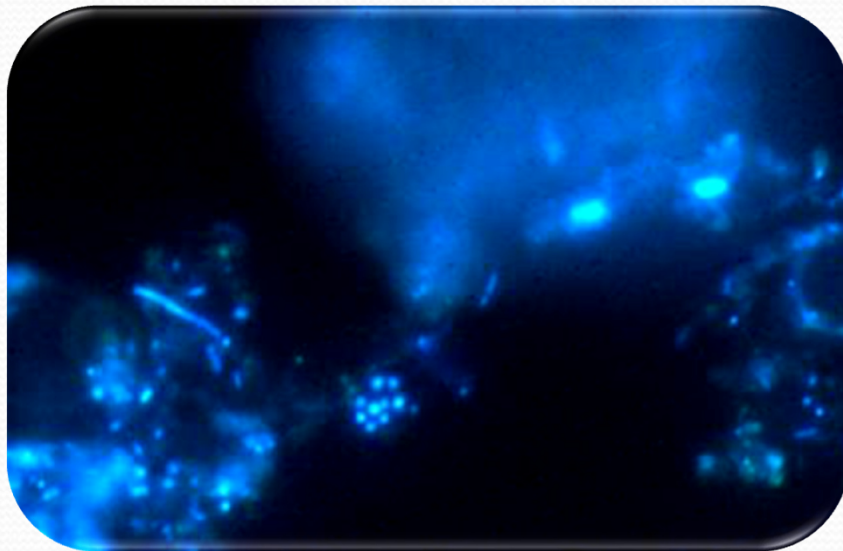
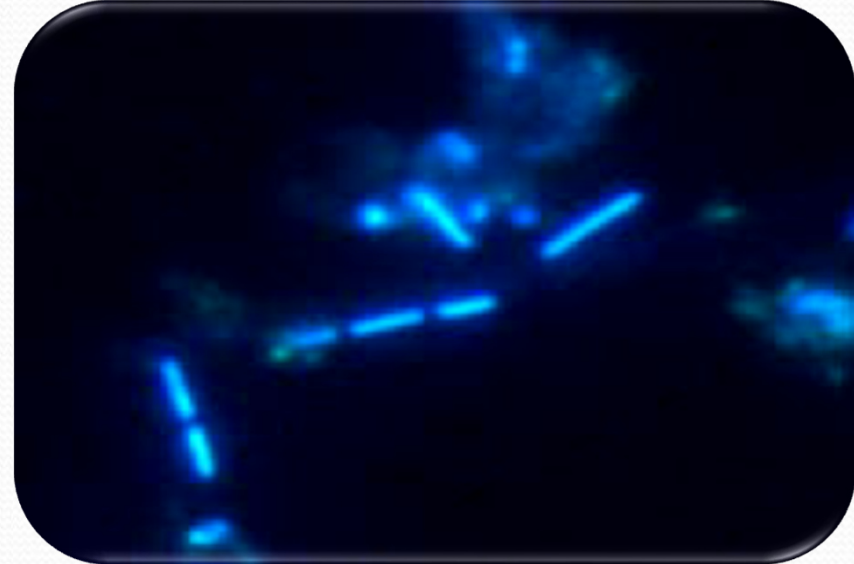
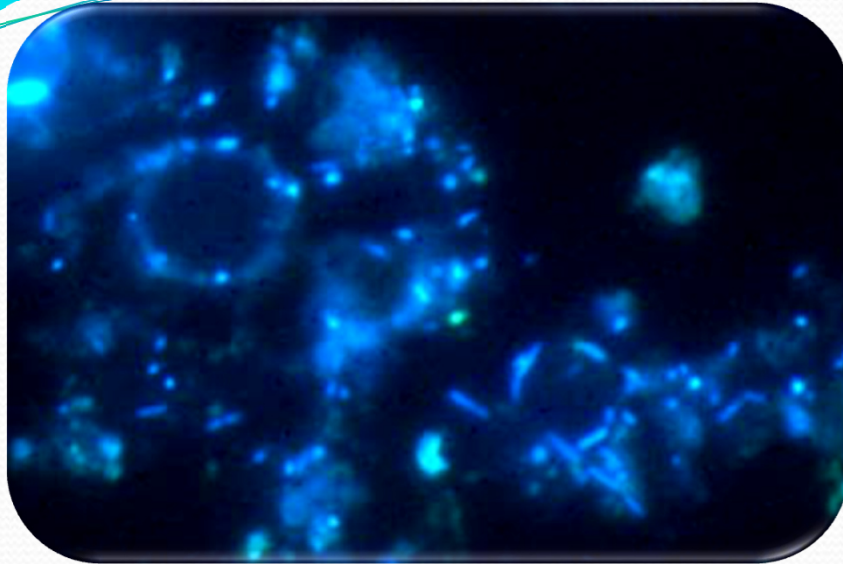
Myjnia samochodów, urządzenia klimatyzacyjne,  
systemy wykorzystujące procesy wodne, np. wieże chłodnicze.



(a) Pakietowy wymiennik ciepła,  
(b) Kamień wodny i biofilm z różnymi mikroorganizmami.

## Biofilm i biofouling w wieżach chłodniczych





**Obraz mikroskopowy biofilmu  
barwiony DAPI;  
1000 x powiększenie;  
Mikroskop epifluorescencyjny;  
Formy bakteryjne:  
paciorkowce i pałeczki**

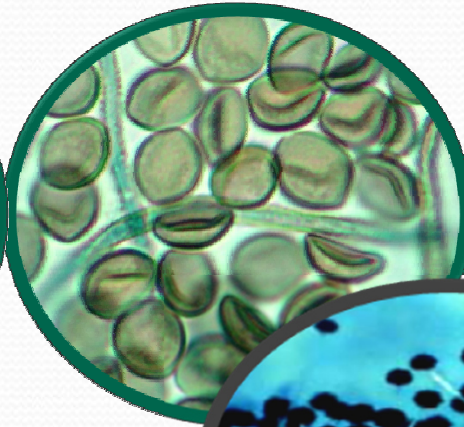


# Pleśnie w biofilmie z przemysłowych wód chłodniczych

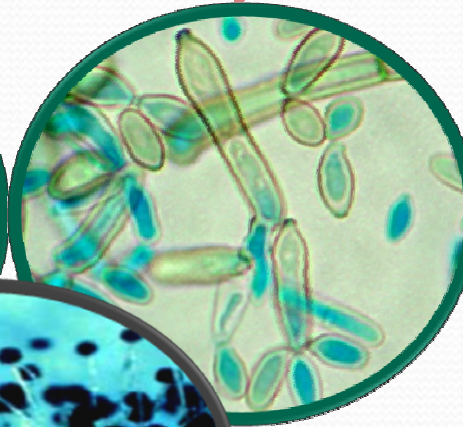
**Eurotium**



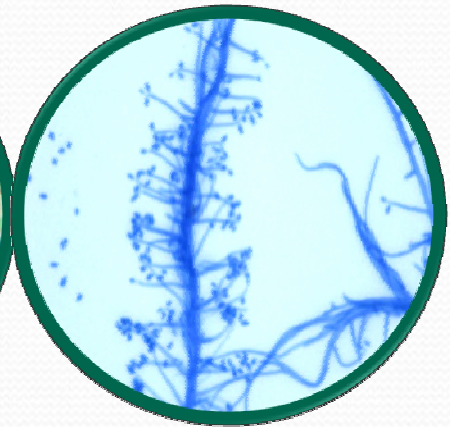
**Chaetomium**



**Cladosporium**



**Acremonium**



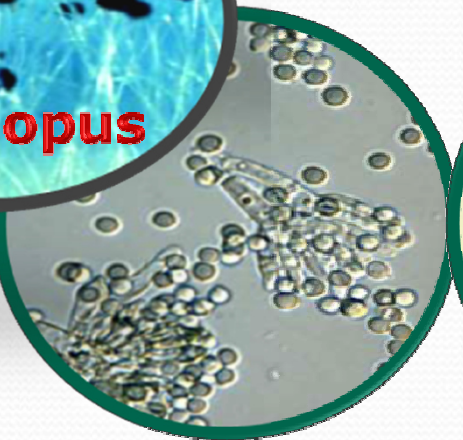
**Fusarium**



**Curvularia**



**Rhizopus**

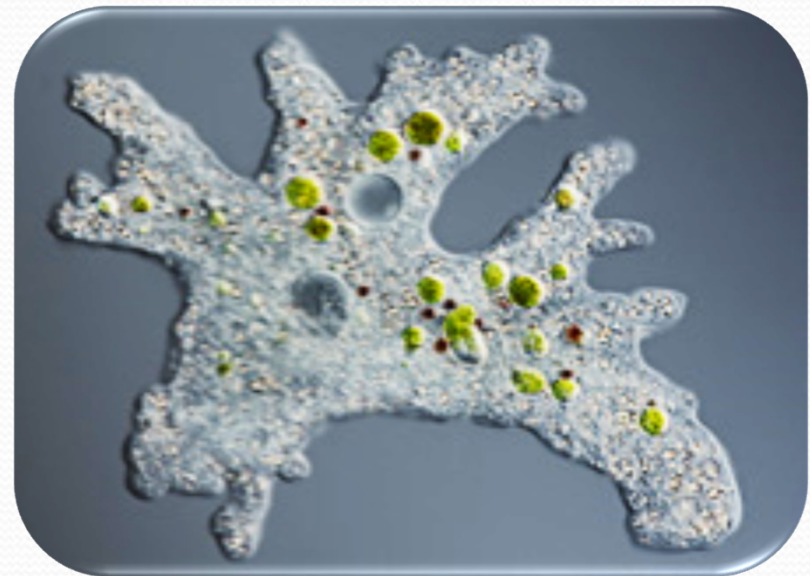
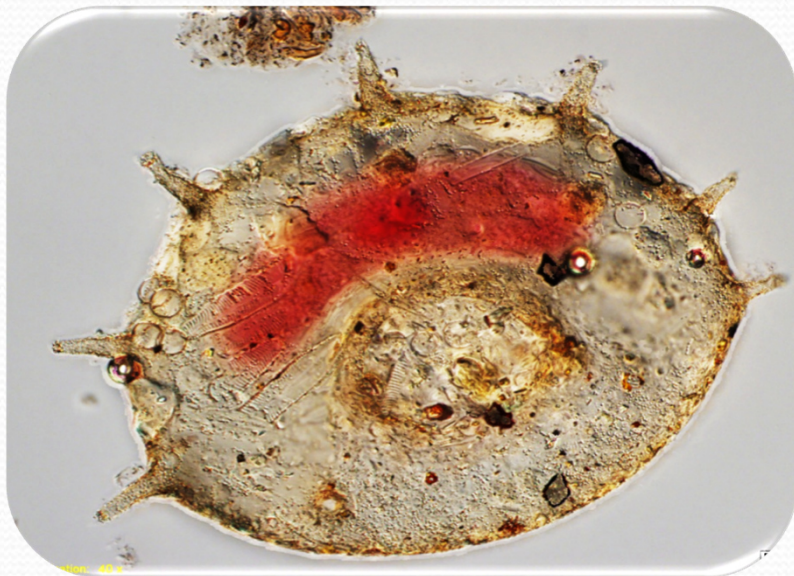
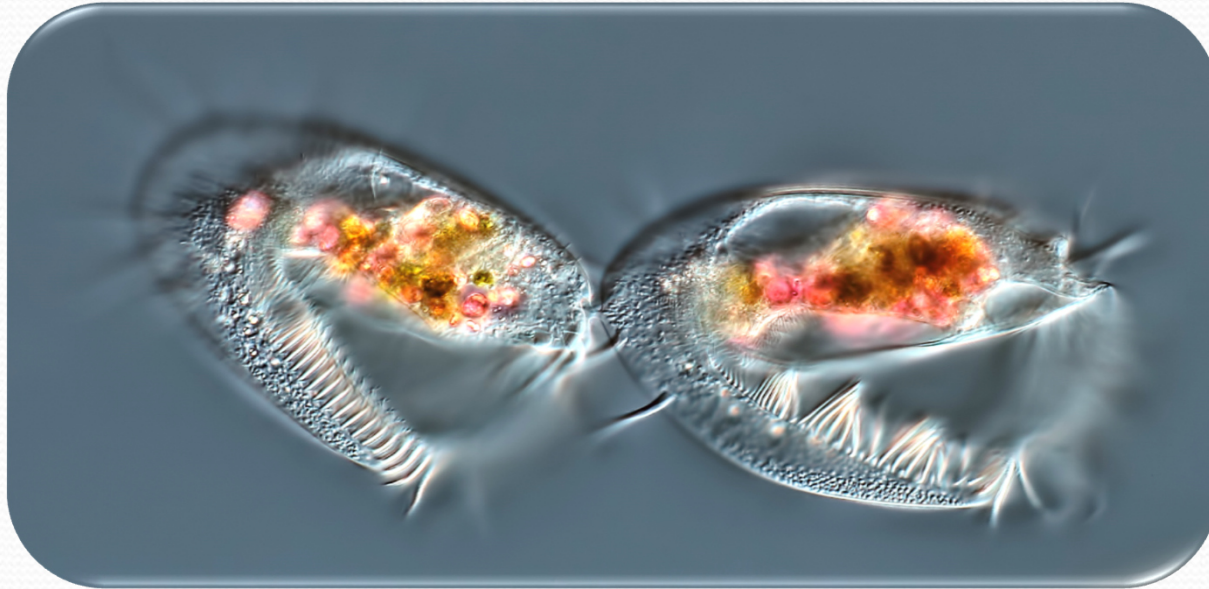


**Penicillium**

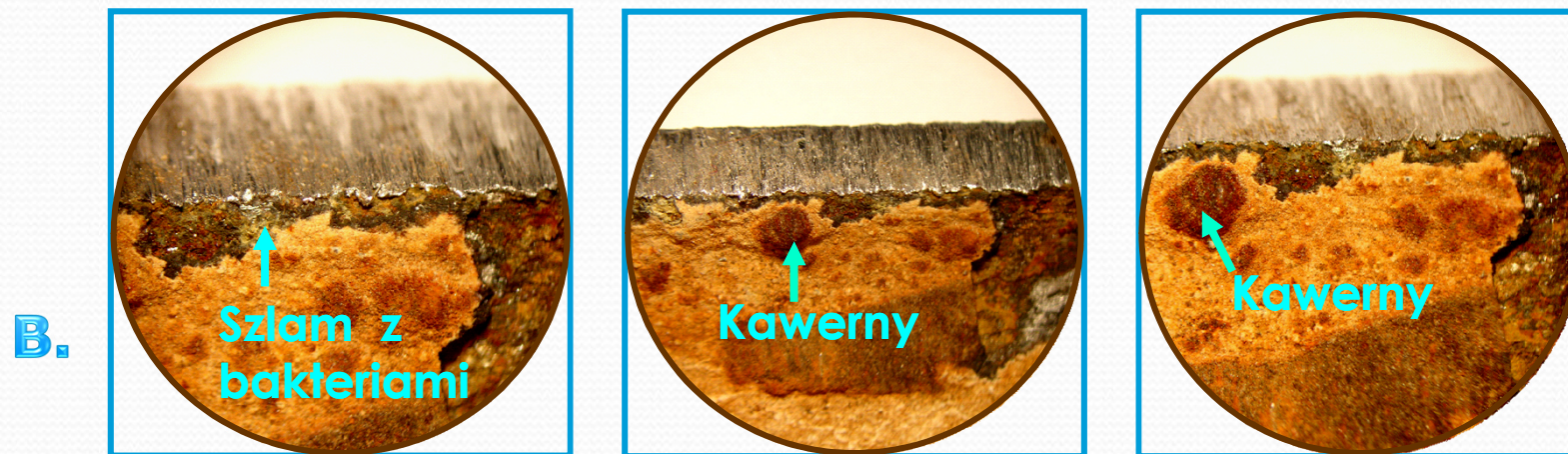
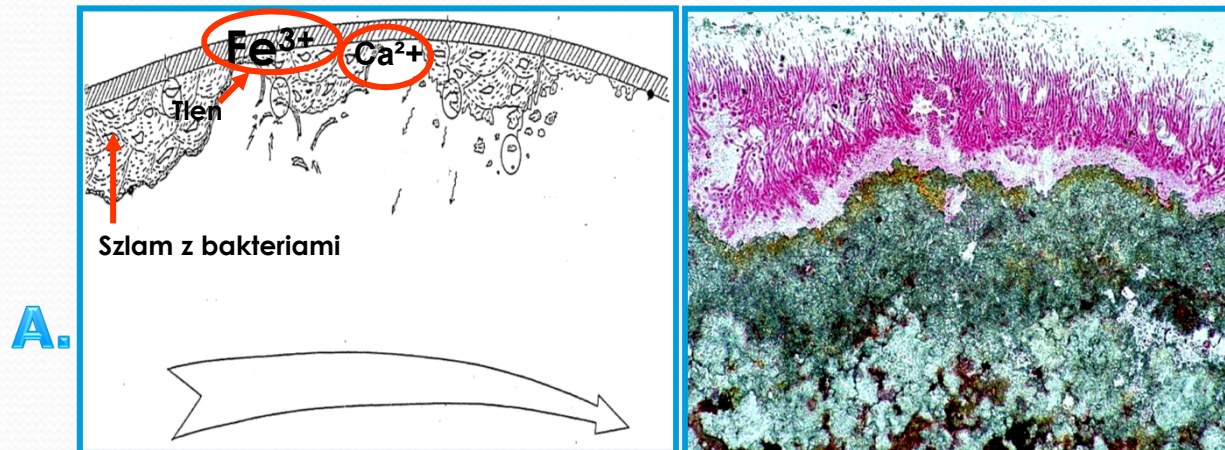


**Alternaria**

## Protozoa i ameba

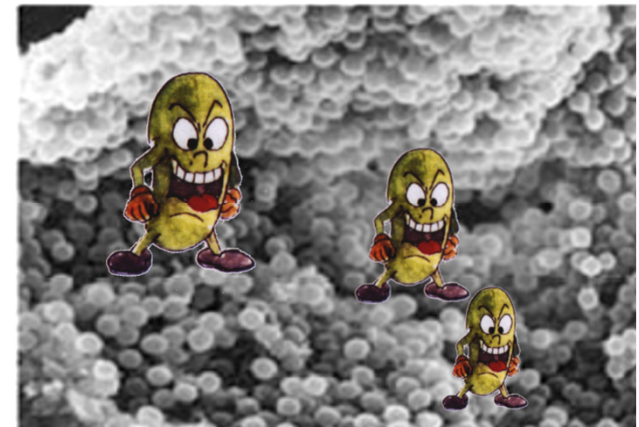
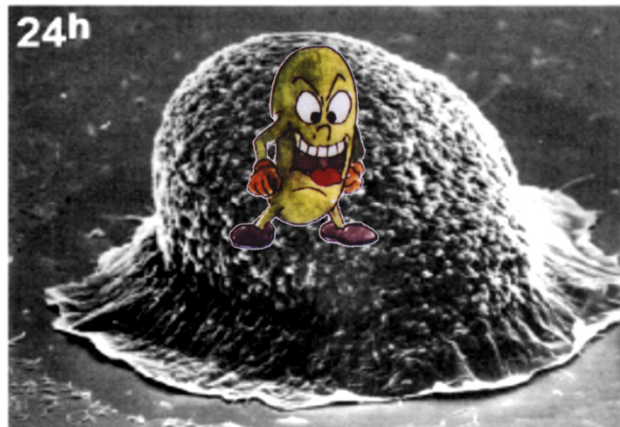
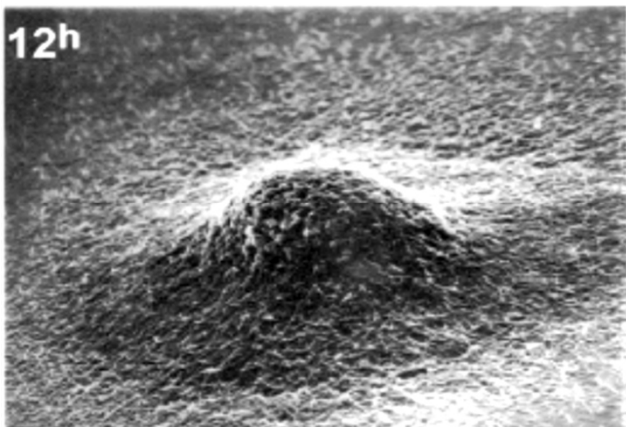
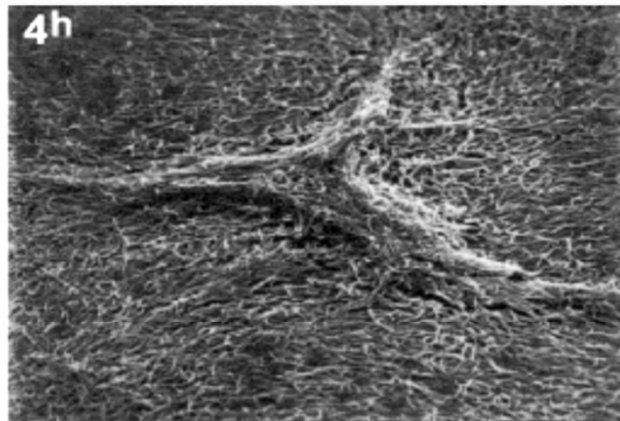
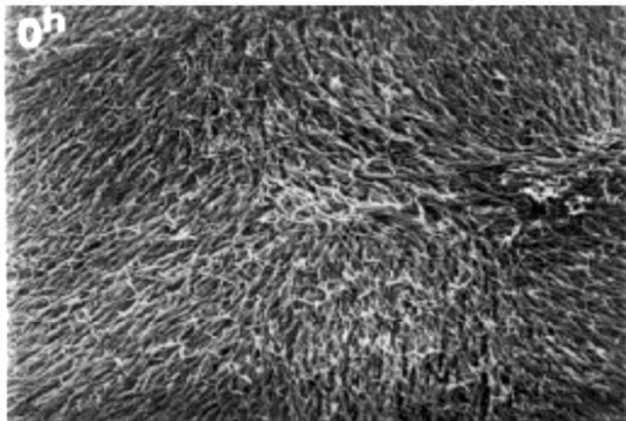


## Inkrustacja biofilmu kamieniem wodnym



Obraz wewnątrz rury wodociągowej (wody ciepłej):  
(A.) Biofilm (szlam) i substancje mineralne,  
(B.) Rury z kamieniem wodnym i biofilmem (foto: A. Salek)

# Stadia wzrostu biofilmu, np. *Pseudomonas aeruginosa*



10µm

## Matrix EPS biofilmu z *Pseudomonas aeruginosa*

Distribution	in cells	in EPS
Polysaccharides	19,8 %	79,2 %
Uronic acids	15,0 %	85,0 %
Proteins	58,4 %	41,6 %

### EPS-components

Polysaccharides	69,0 %
Lipopolysaccharides	0,5 %
Proteins	25,0 %
other components	5,5 %
[no nucleic acids detected]	

### Polysaccharides

Alginate	81,8 %
Neutral polysaccharides	18,2 %

# Legionella pneumophila

**Quorum sensing**

???

**Komensalizm**

???

**Antagonizm**

???



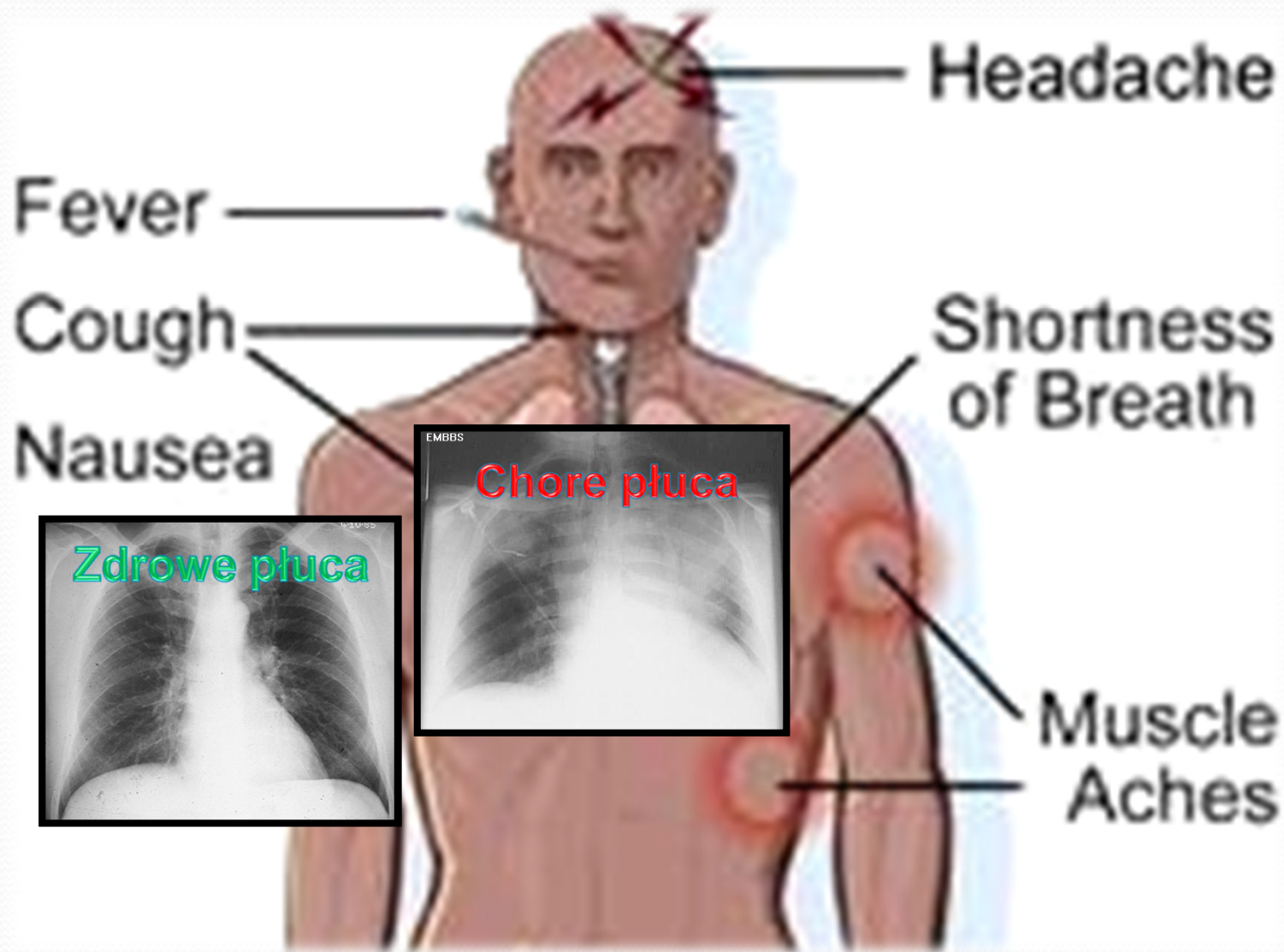
# Health hazards by biofilms:

# Legionellosis

- Every case is proof of contact with an improperly managed water system
- Every case could have been prevented by applying practical scientific management principles
- Legionella are typical biofilm-related pathogens as they survive in protozoa which graze on biofilms

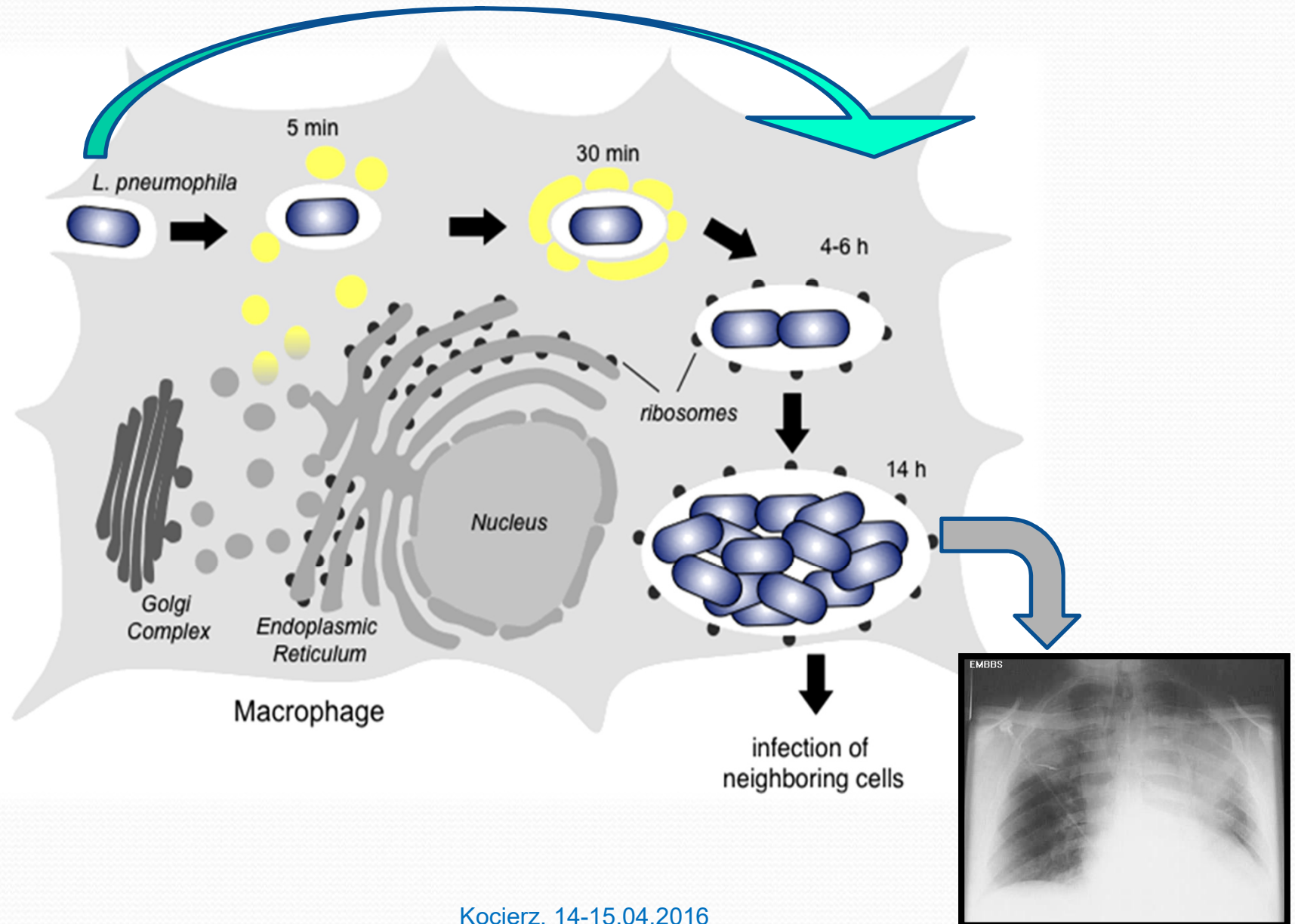


# Legionelloza

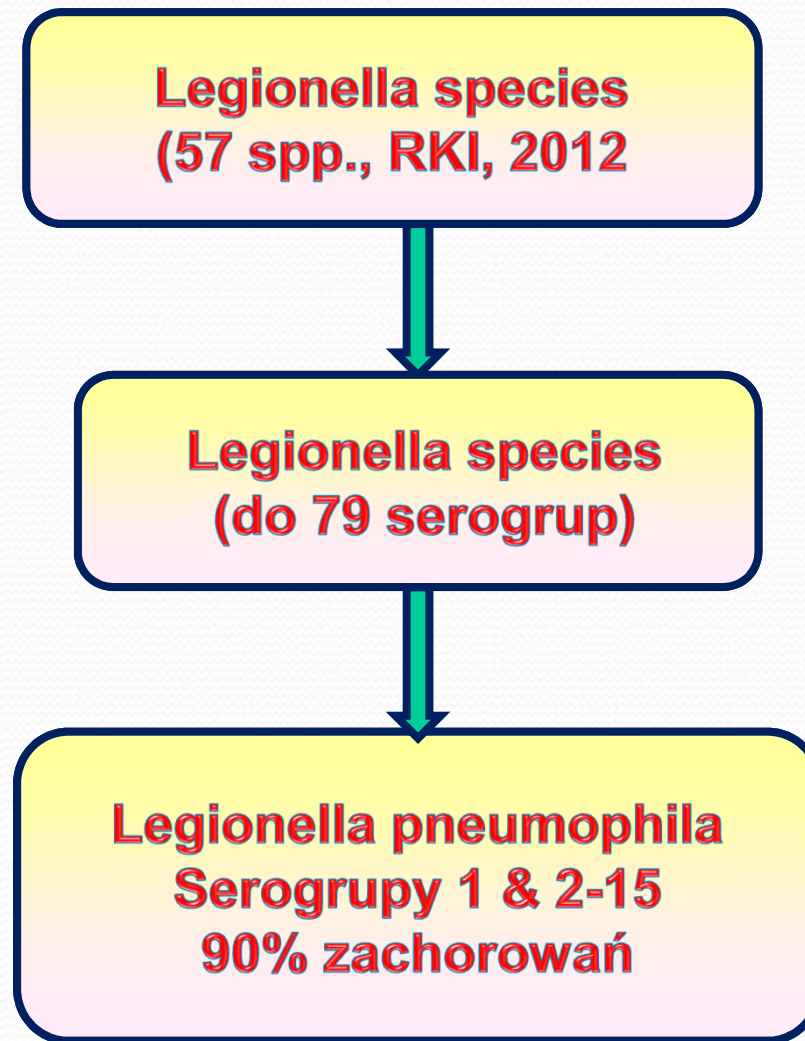


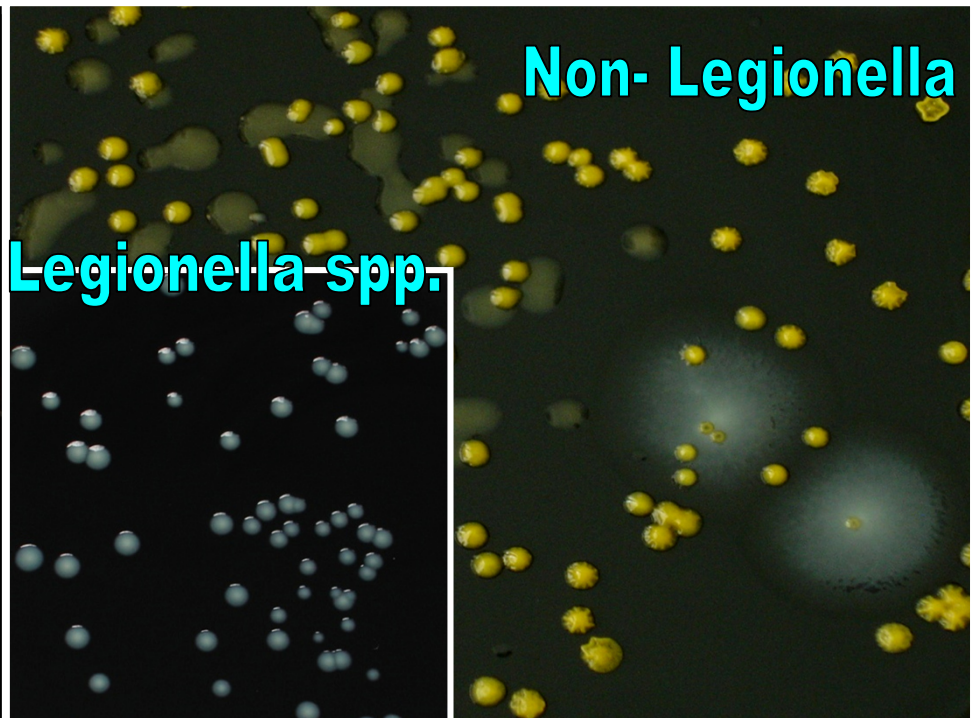
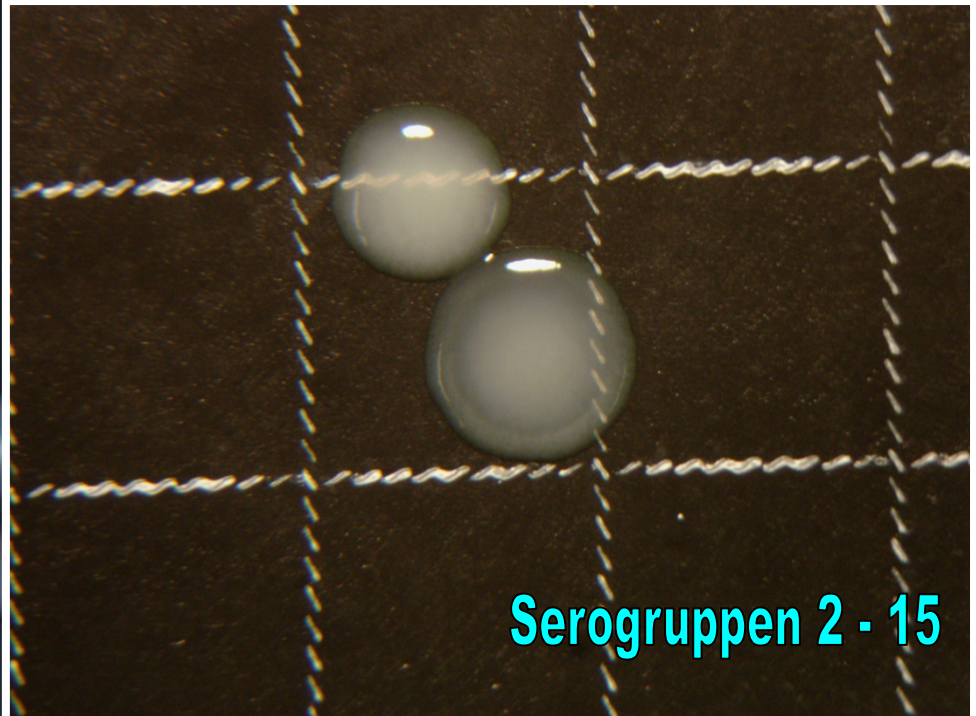


# Cykl infekcyjny *Legionella pneumophila* w płucach

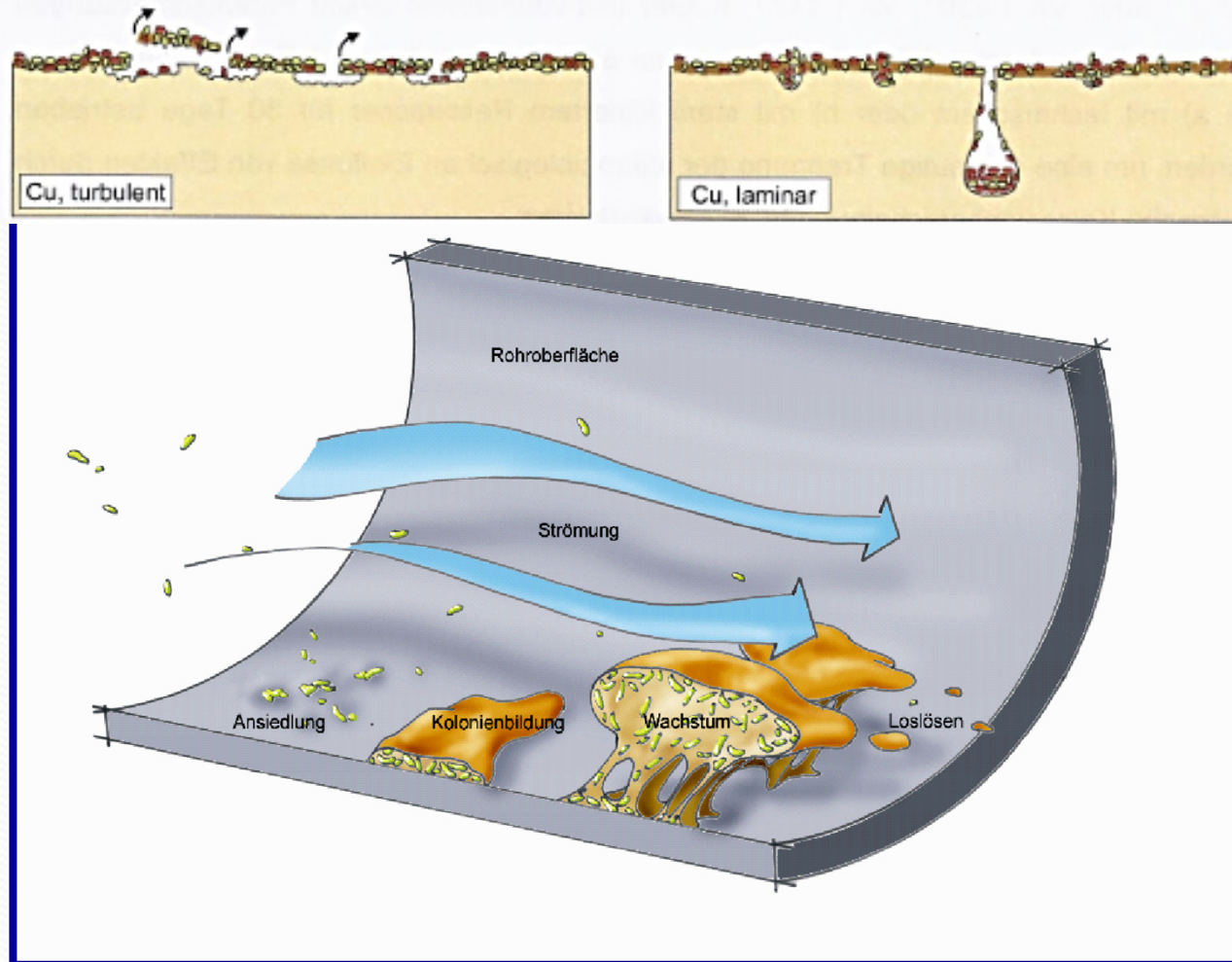


## Obecność bakterii *Legionella* species w środowisku

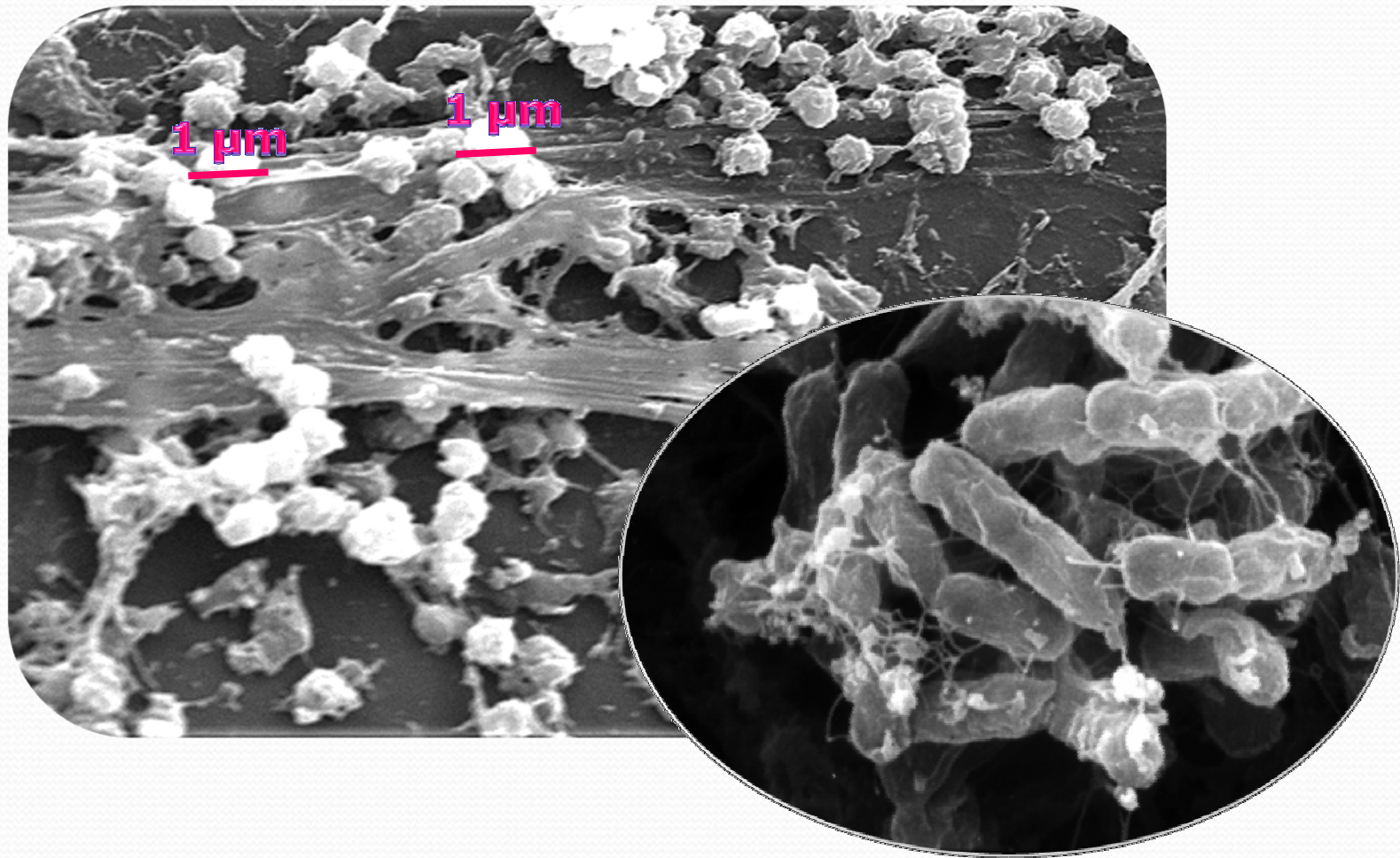




# EPS Matrix: biofilm w wodnych systemach chłodniczych

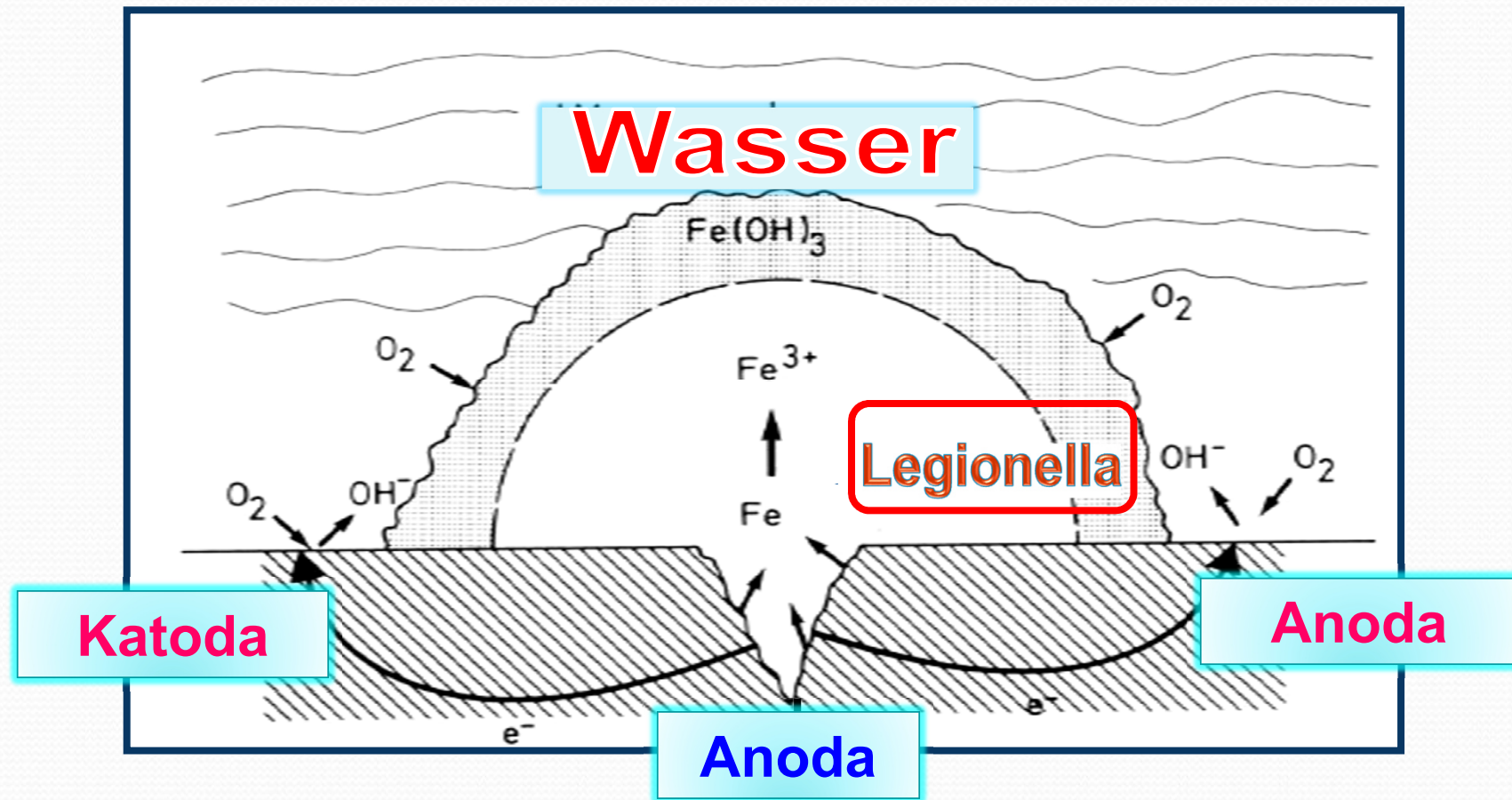


## Struktura EPS biofilmu z *Pseudomonas aeruginosa*



# Biokorozja metali

Warunki tlenowe przyspieszają biokorozję



## ***Legionella* spp.: Metody badawcze**

- Rutynowe badanie bakterii *Legionella* spp. przeprowadzane są zgodnie z normą ISO 11731-2 (grudzień 2015), wg której kolonie rosnące na selektywnej pożywce agarowej GVPC, lecz nie rosnące:
  - na pożywce GVPC bez cysteiny,
  - lub na agarze z krwiąsą liczone jako bakterie *Legionella* spp.

## **Legionella spp.: Metody badawcze**

- **Jednakże w praktyce, na tejże selektywnej pożywce, spotyka się liczną mikroflorę towarzyszącą, np. *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas* sp., która ma duży wpływ na właściwe wyniki oznaczania bakterii *Legionella*.  
W tym przypadku, wg normy, nie uwzględnia się efektów inhibicji wzrostu bakterii *Legionella* przez bakterie antagonistyczne.**

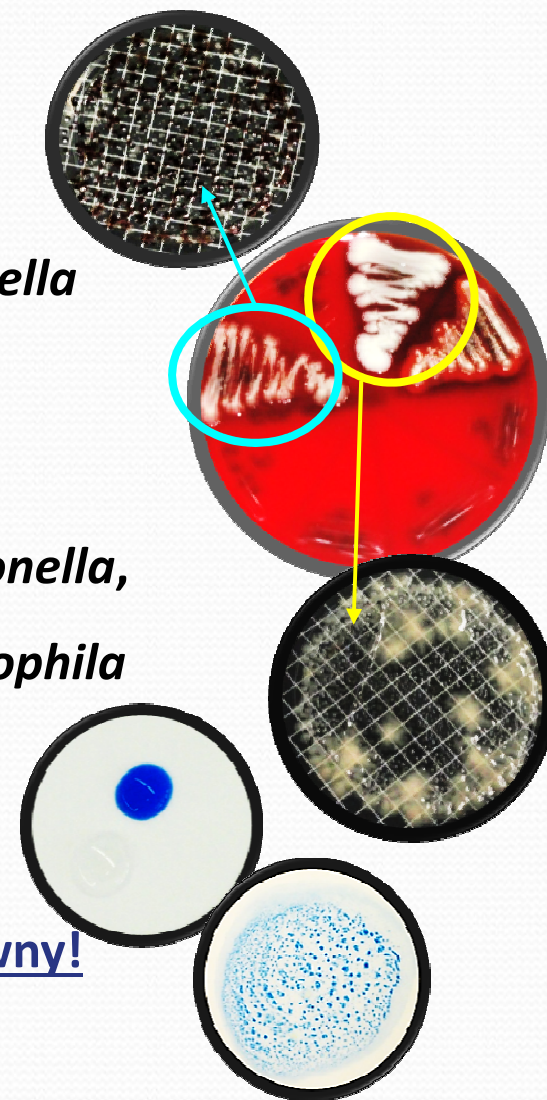


## Wynik fałszywie negatywny

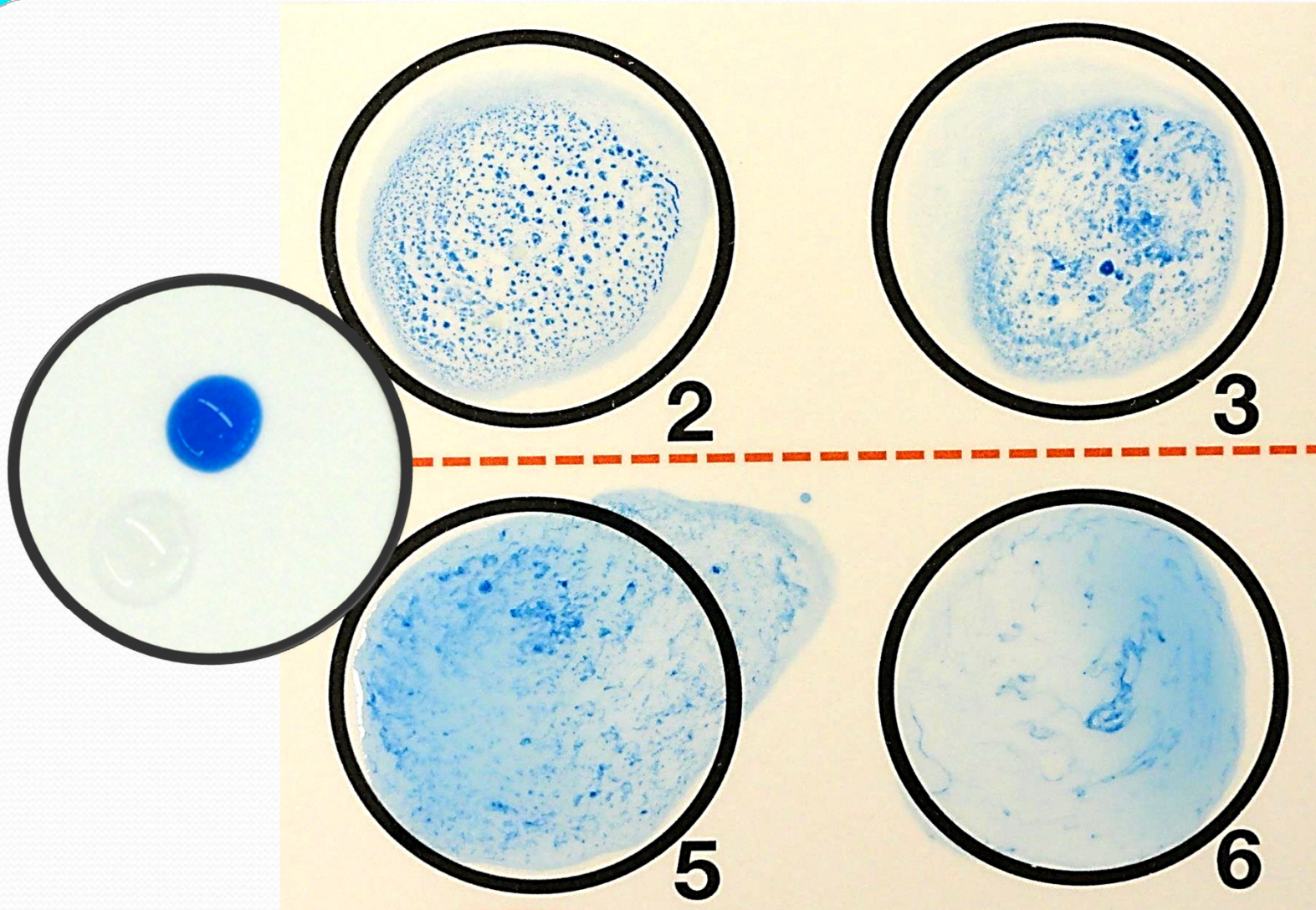
### Przykład:

- Wzrost na podłożu GVPC: morfologicznie jak *Legionella pneumophila* oraz dużo mikroflory towarzyszącej,
- Wzrost na pożywce z krwią: wynik pozytywny
- ➔ • bez wykonywania aglutynacyjnego testu: brak *Legionella*,
- Test aglutynacyjny z przeciwciałami dla *Leg. pneumophila* stwierdza obecność *Legionella pn.* serogrupy 2-15,
- Stąd wynik: ***Legionella pneumophila*: pozytywny!**

Bez testu aglutynacyjnego: wynik fałszywie negatywny!



## Test aglutynacyjny dla bakterii *Legionella* spp. (przykład)



## **Czy istnieje korelacja pomiędzy mikroorganizmami?**

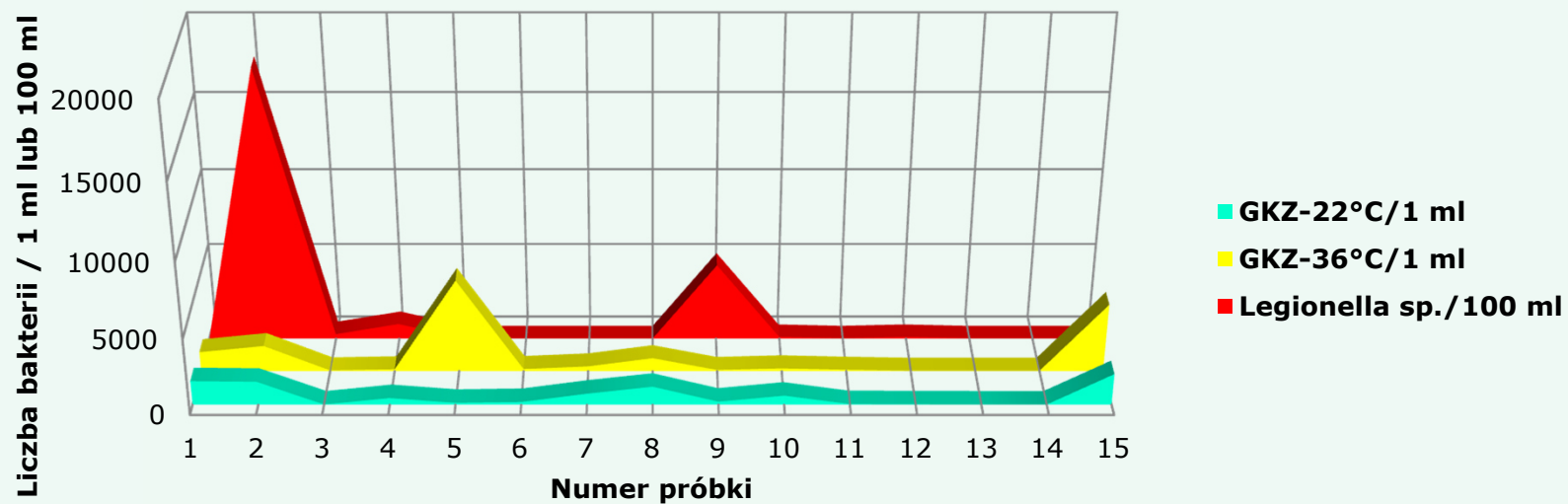
**Badanie ogólnej liczby drobnoustrojów celem oszacowania liczby bakterii *Legionella* spp., infekujących system chłodniczy, jest nieuzasadnione, gdyż ogólna liczba bakterii nie oddaje faktycznego stanu biologicznego w biofilmie, ani ilości bakterii *Legionella* spp. w wodzie z wież chłodniczych.**

**Tak więc stwierdza się brak istotnej korelacji pomiędzy bakteriami *Legionella* w wodzie chłodniczej a ogólną liczbą drobnoustrojów.**

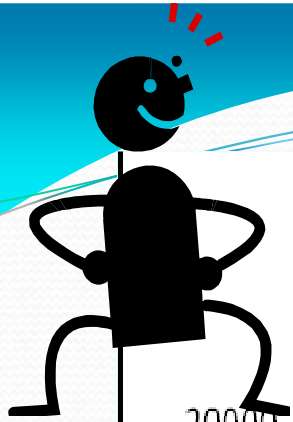
**(Bentham, 2000; Salek, 2013)**



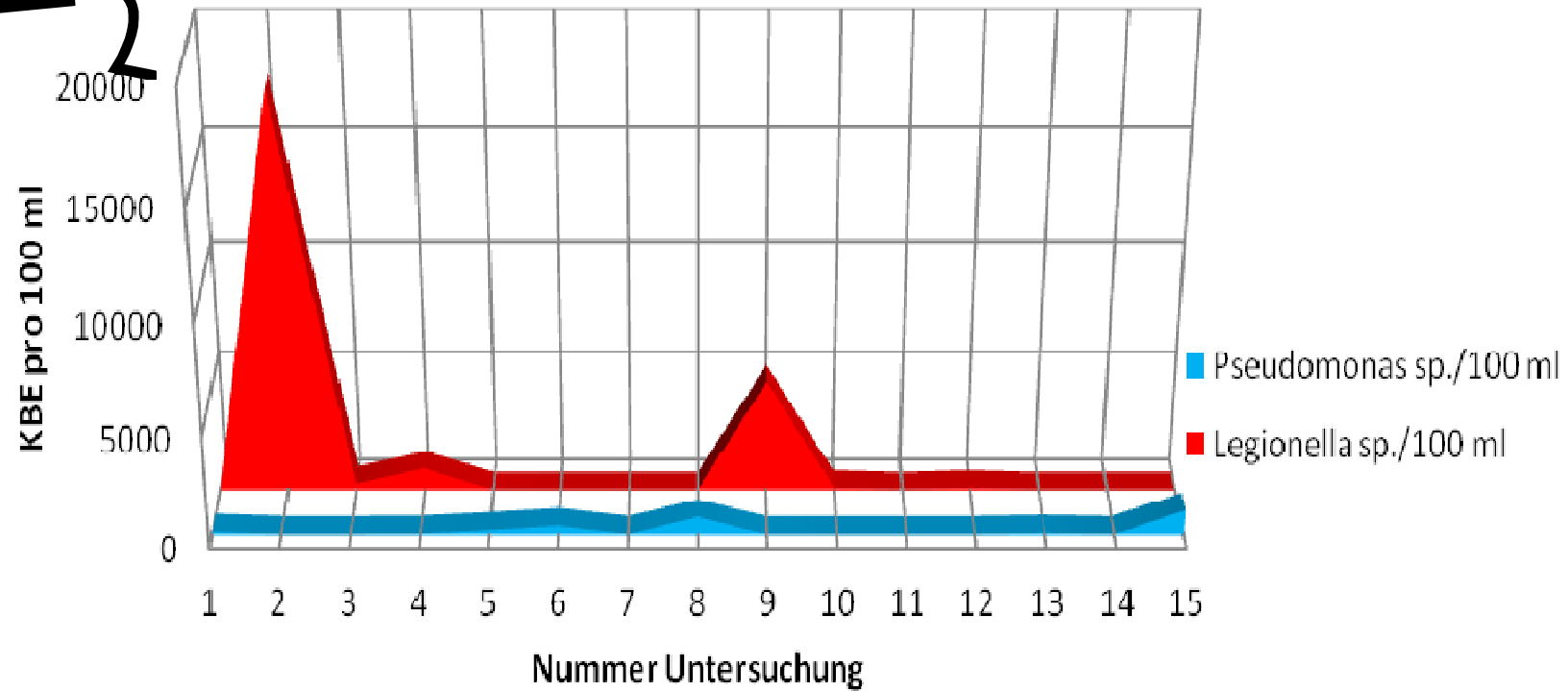
## Brak istotnej korelacji pomiędzy ogólną liczbą drobnoustrojów a liczbą bakterii *Legionella* spp. w wodzie chłodniczej



Salek, 2013



## Odwrótne korelacja pomiędzy bakteriami *Pseudomonas aeruginosa* a *Legionella* sp.



## Podsumowanie 1

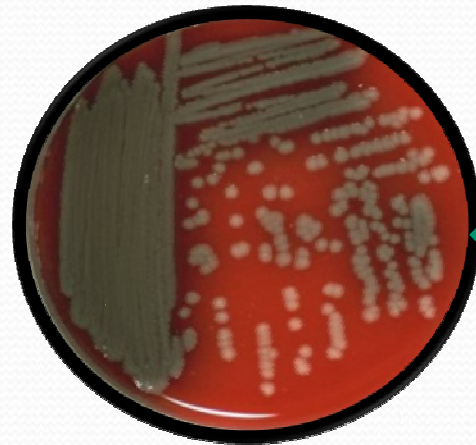
Stwierdzono, że biofilm o dużej biomase zawiera głównie bakterie *Pseudomonas aeruginosa*. W tym samym czasie bakterie *L. pneumophila* nie rosną.

Pewne gatunki bakterii są dla *Legionella* spp. **antagonistami**, inne zaś wspomagają ich wzrost; efekt ten zwany jest **komensalizmem**.

# ***Pseudomonas aeruginosa***



## Barwniki i toksyny z *Pseudomonas aeruginosa*



*Pseudomonas aeruginosa*



Fluoresceina czy  
Pyoverdina (żółta)

**Fluorescencja**

Pyocyjanina  
(niebiesko-zielona)

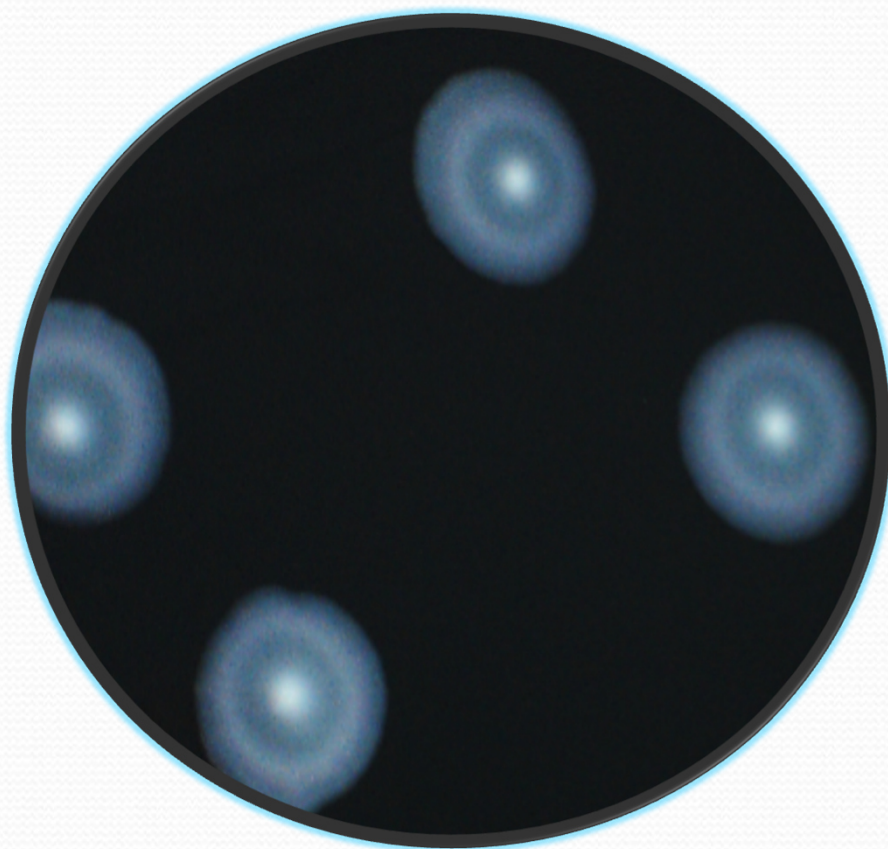
**Toksyna !!!**

**Zmiany barwy**

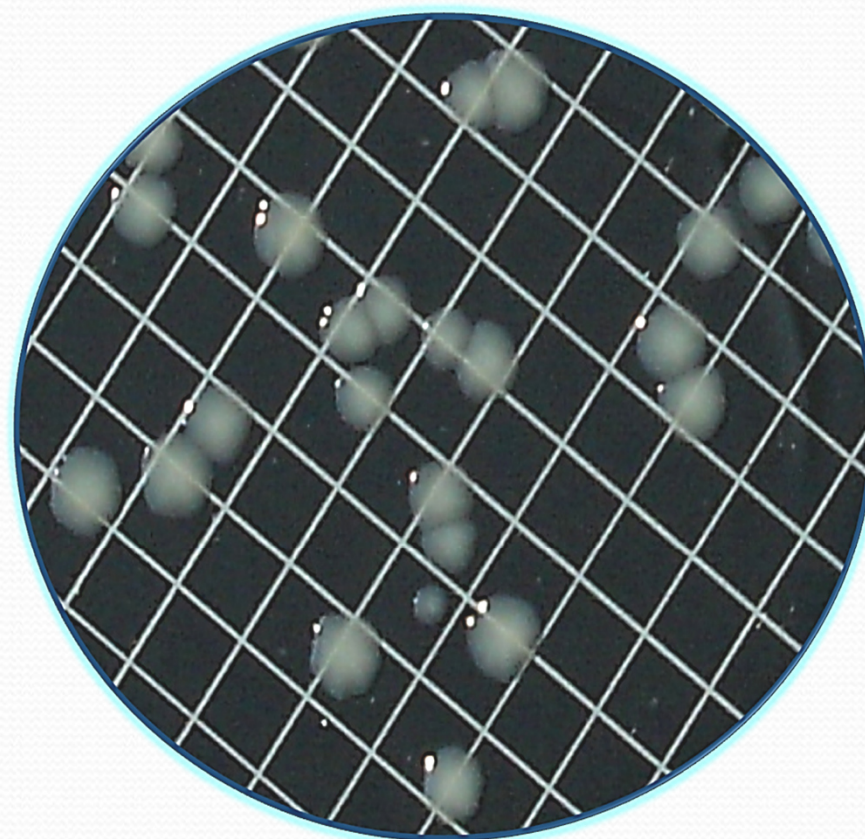
Pyorubina  
(czerwono-bązowa)



# *Legionella pneumophila*



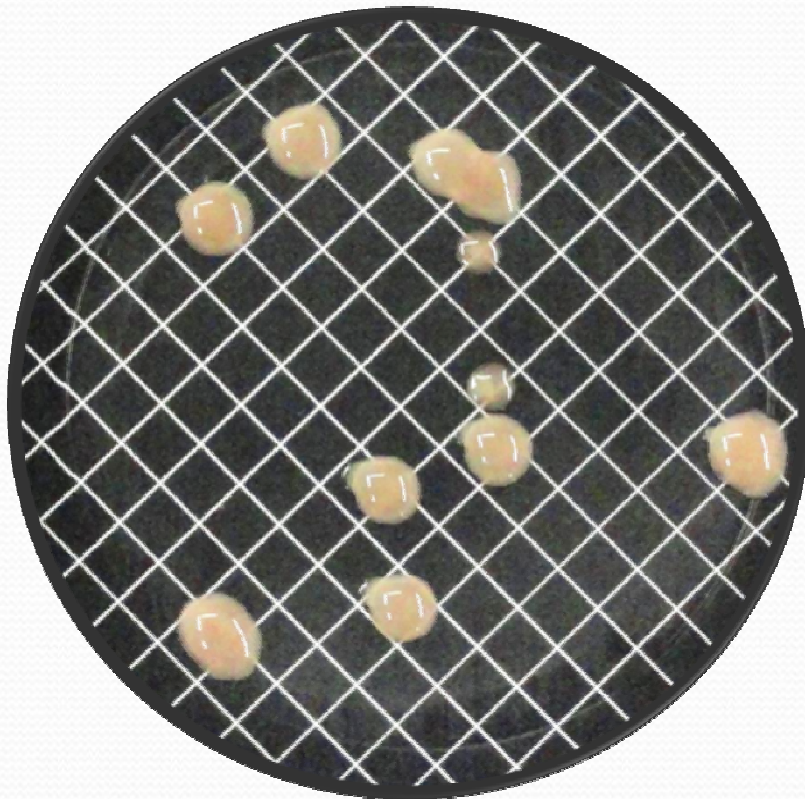
**Serogrupa 1**



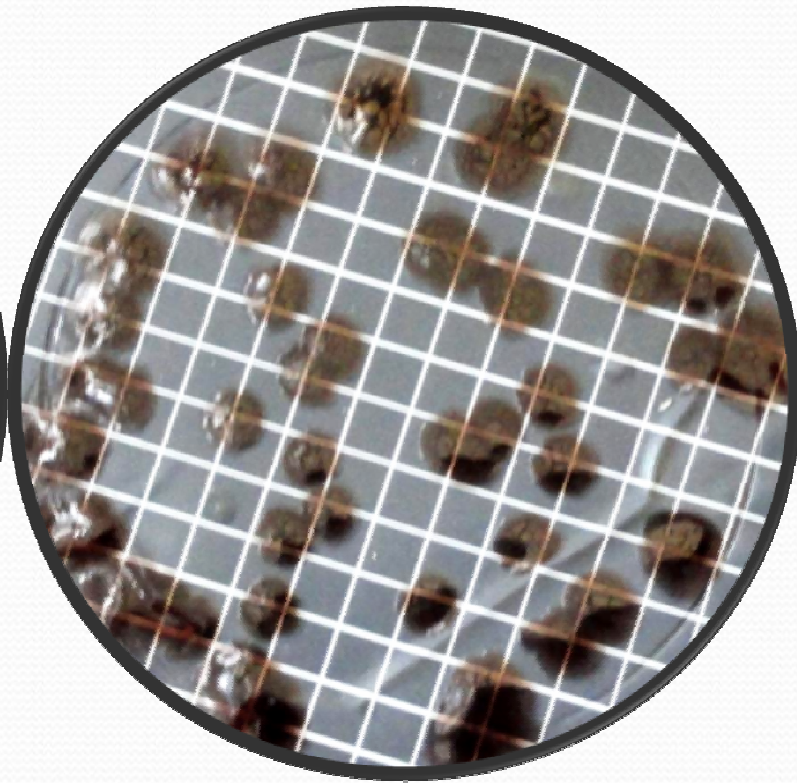
**Przedstawiciele serogrupy 2-15**

## ***Aeromonas* sp. und *P. aeruginosa* jako inhibitory *Legionella***

*Aeromonas* sp.



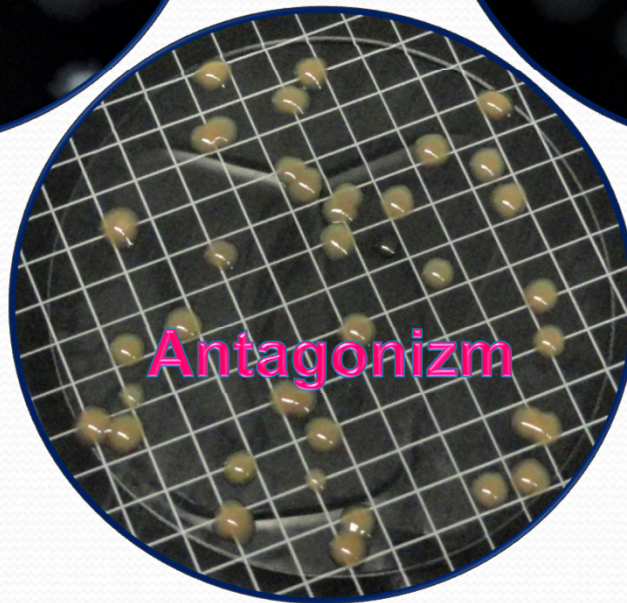
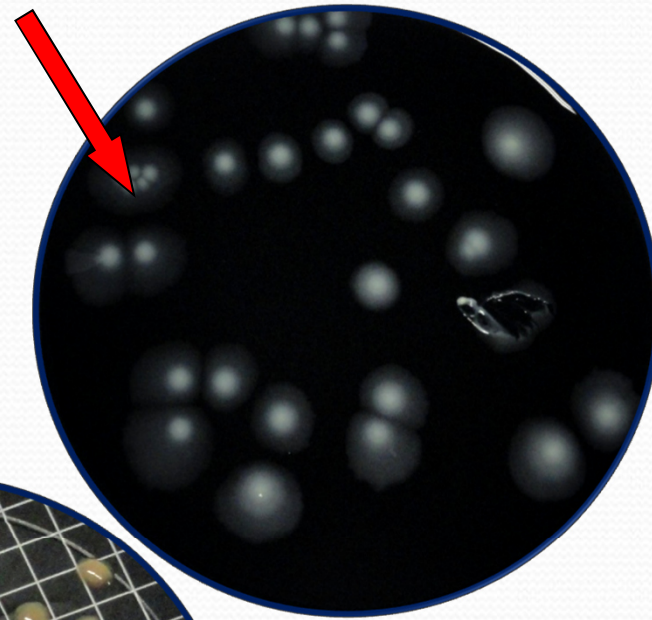
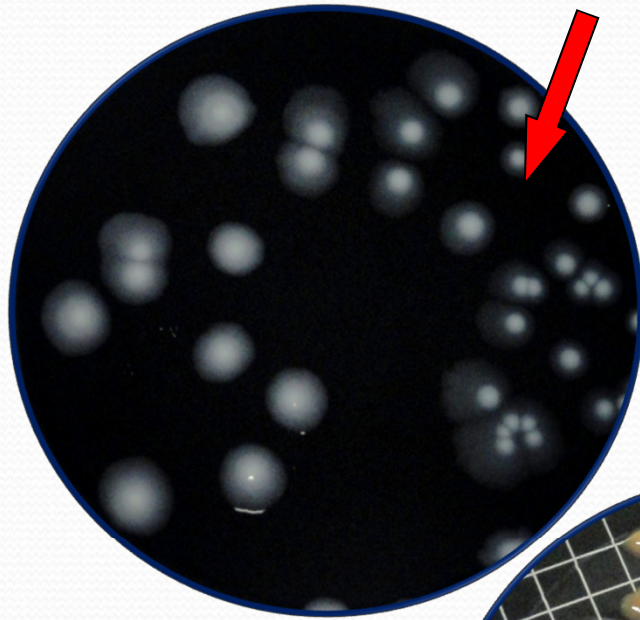
*Pseudomonas aeruginosa*



***Legionella* spp. nie egzystują w biofilmie razem z bakteriami**

***Aeromonas* spp. lub *Pseudomonas aeruginosa***

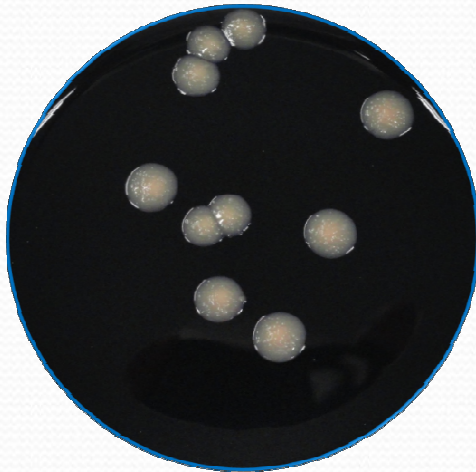
*Legionella pneumophila* Sg. 2 - 15



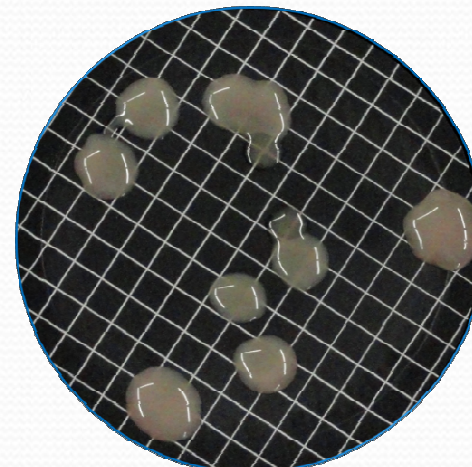
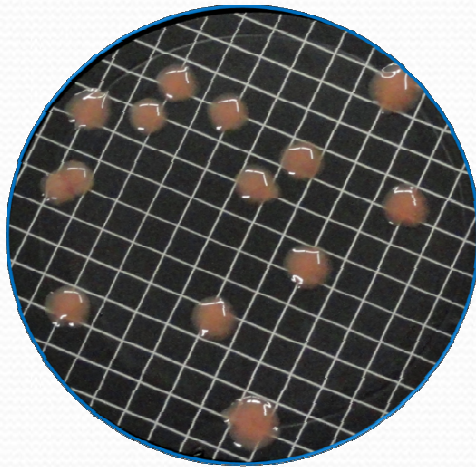
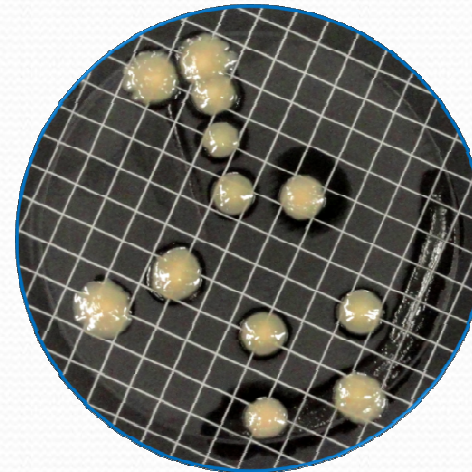
*Stenotrophomonas* sp.

## Bakterie współistniejące w wodzie chłodniczej

*Aeromonas* sp.

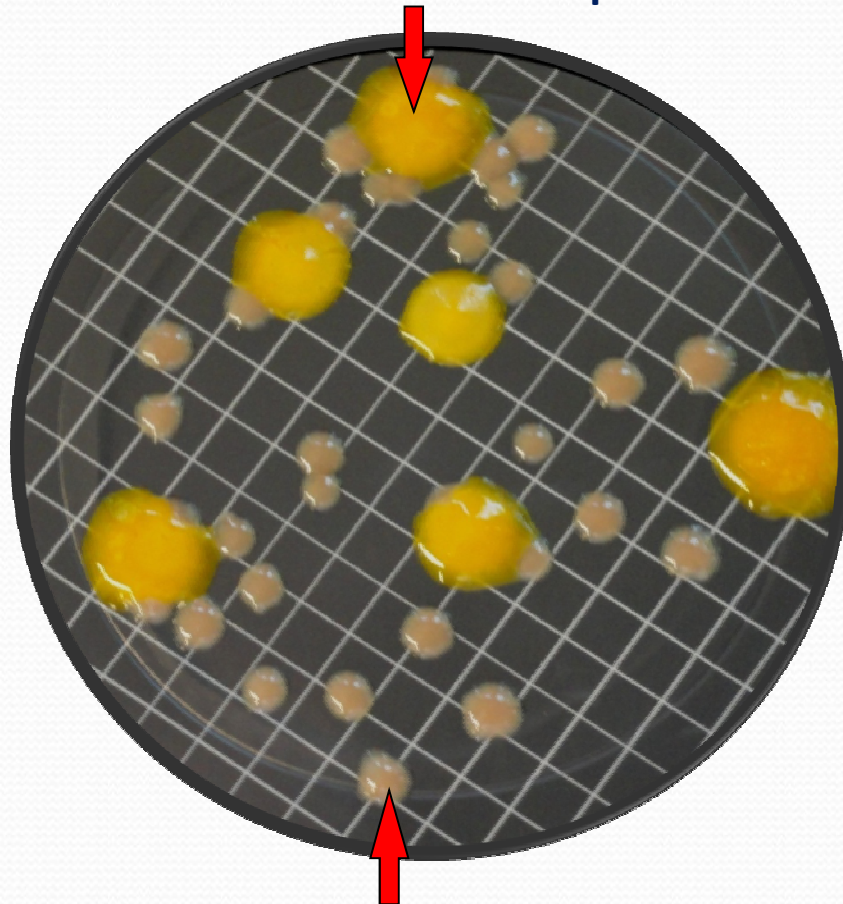


*Stenotrophomonas* sp.



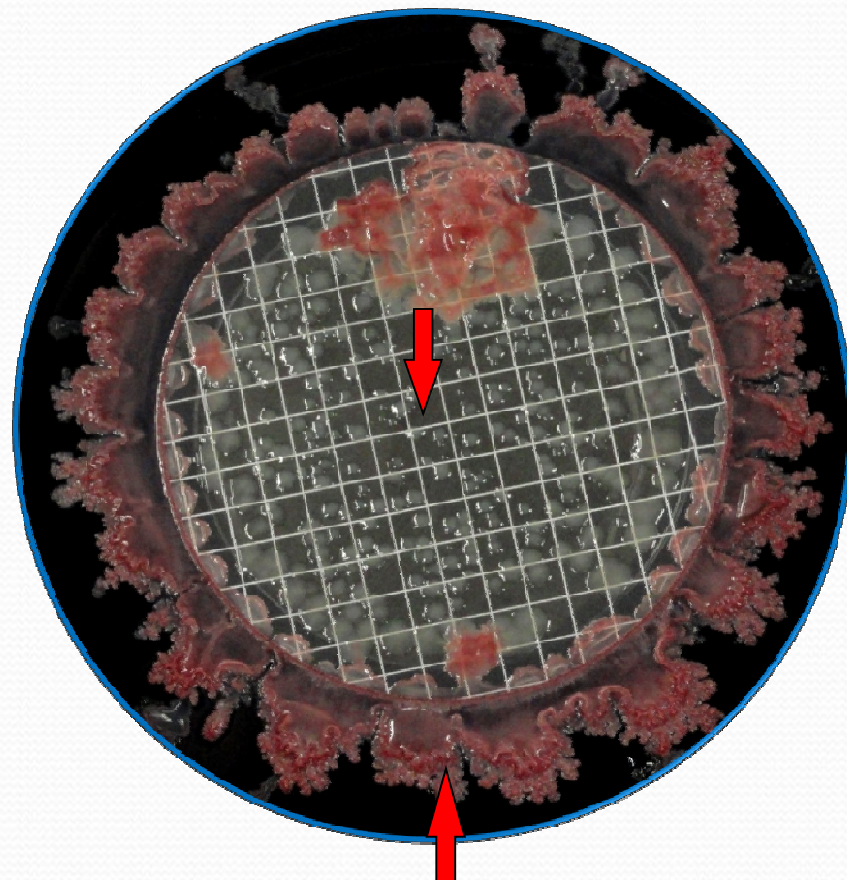
## Bakterie współistniejące w wodzie chłodniczej

*Flavobacterium* sp.



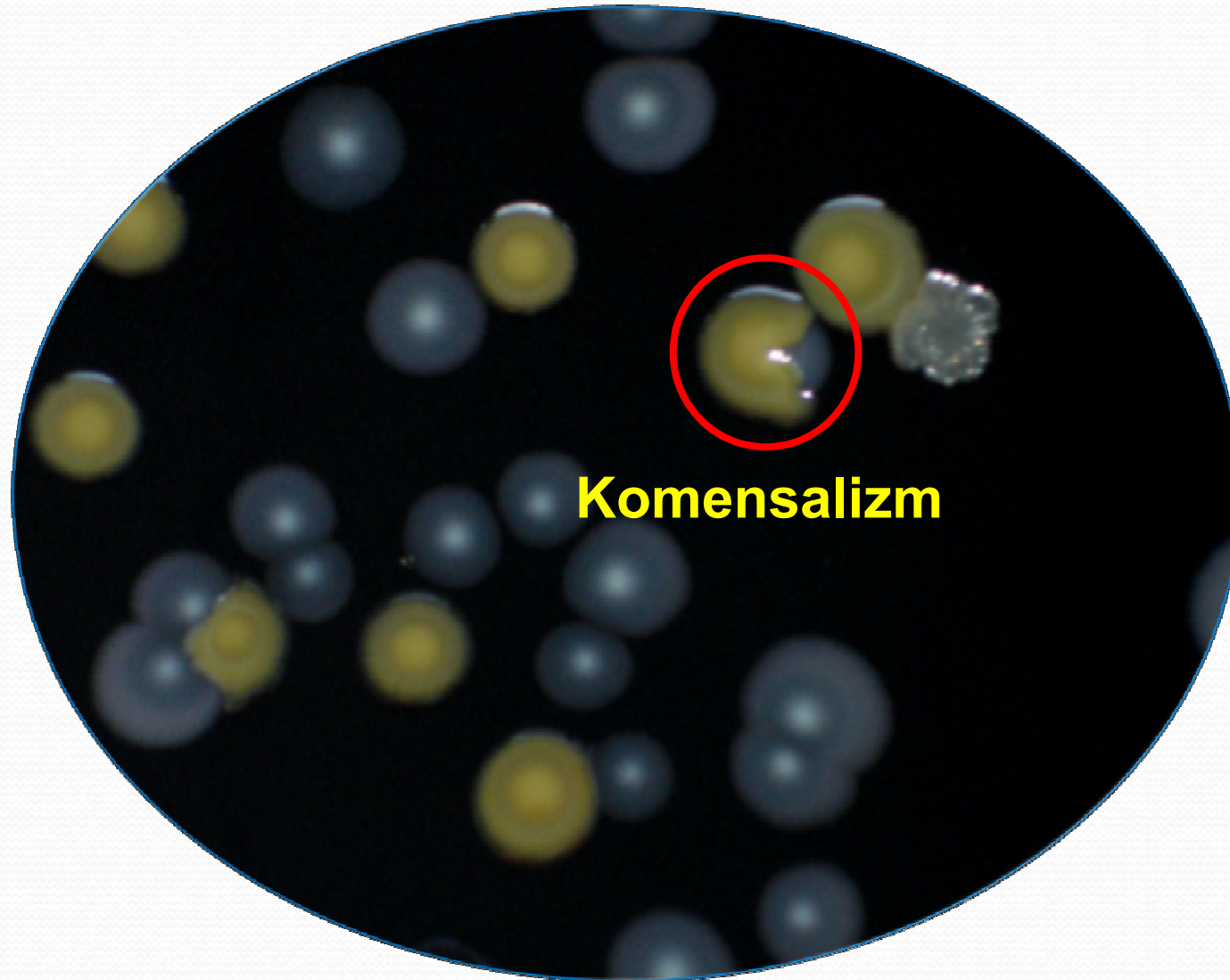
*Aeromonas* sp.

*Stenotrophomonas* sp.



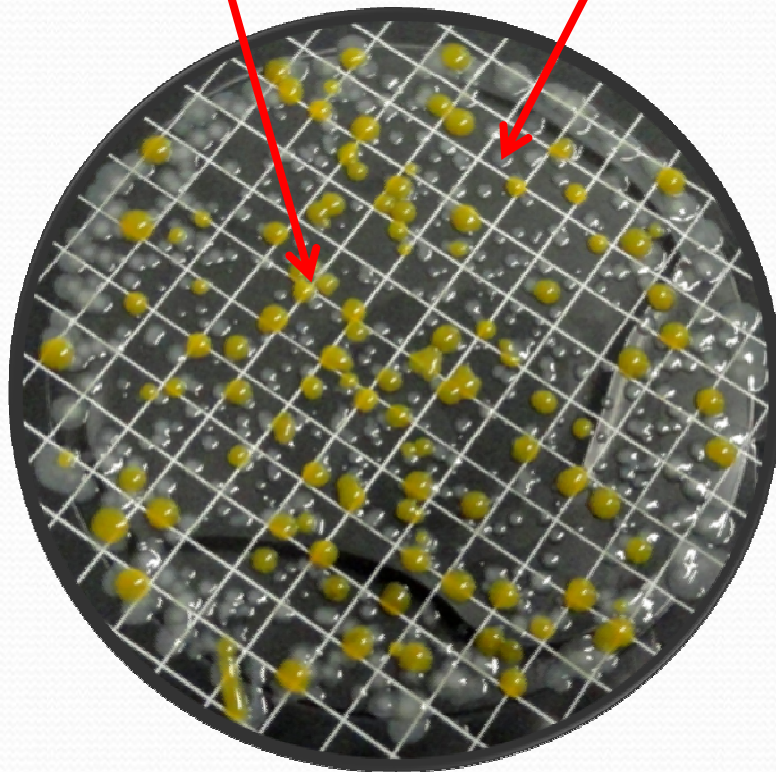
*Bacillus licheniformis*

***Legionella pneumophila* Sg. 1 oraz *Flavobacterium* sp.**



***Flavobacterium* sp. i *Pseudomonas fluorescens*  
razem z *Legionella* sp.**

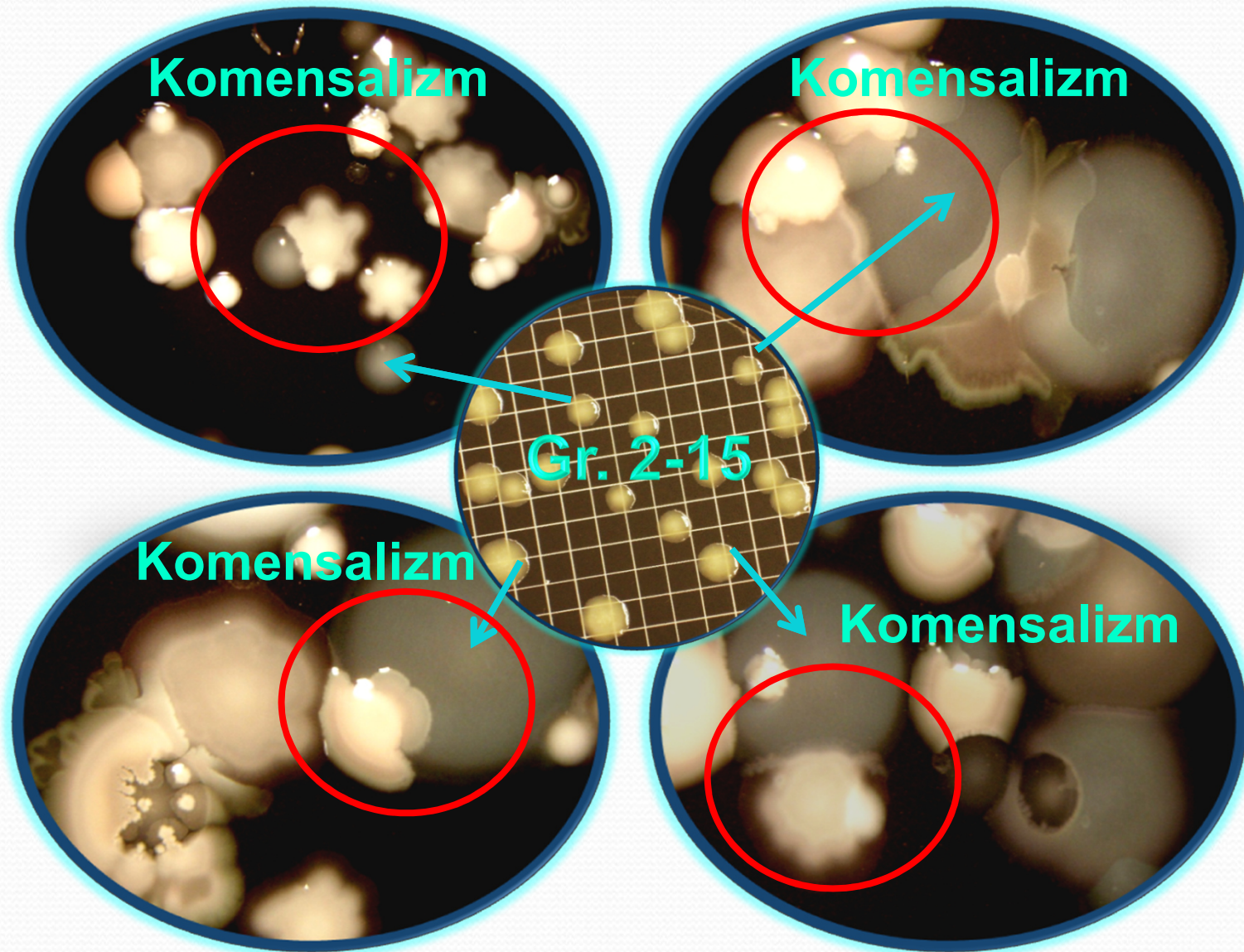
*Flavobacterium* spp. & *Legionella* sp.



*Pseudomonas fluorescens* & *Legionella* sp.

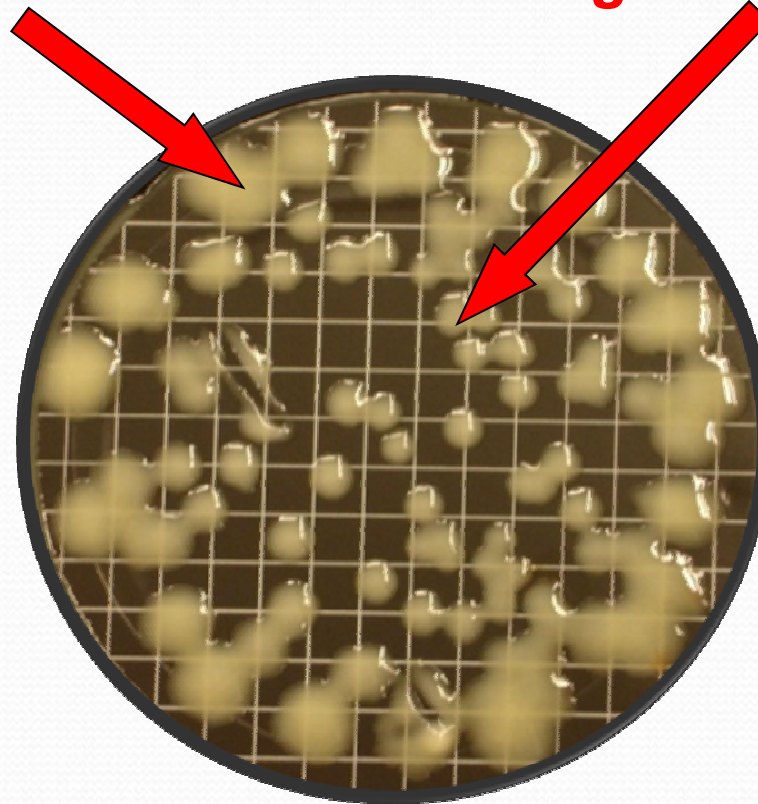


***Legionella pneumophila* serogrupy 2-15 i *Klebsiella* sp.**





***Klebsiella pneumoniae* razem z *Legionella pn.* Sg. 2-15.**

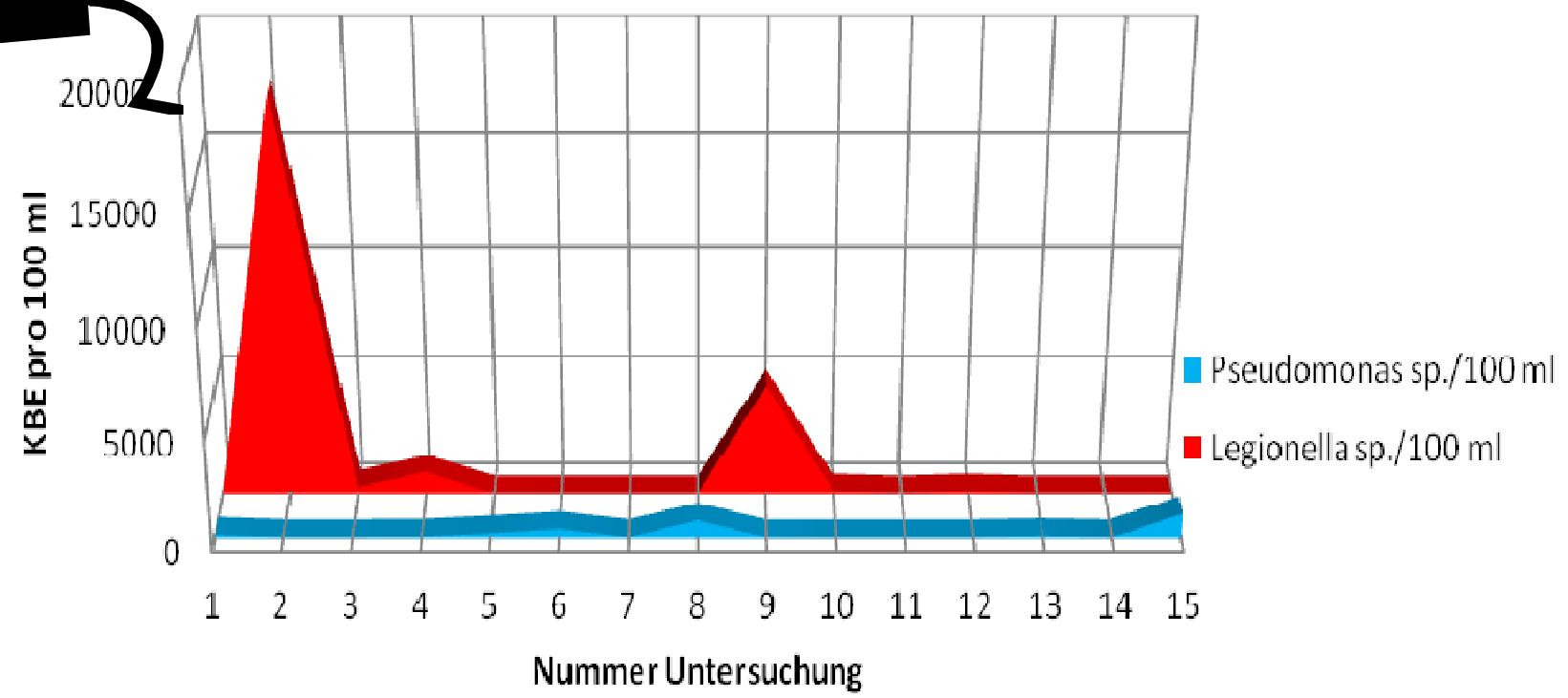


Badania wykazały, że bakterie *L. pneumophila* razem z *Klebsiella pneumoniae*, a także z *Flavobacterium sp.* i *Pseudomonas fluorescens* wspólnie koegzystują, osiągając wysoki poziom kmórek w biofilmie, np.

$10^4 - 10^5 / \text{cm}^2$  badanej powierzchni.



## Odwrótne korelacja pomiędzy bakteriami *Pseudomonas* spp. a *Legionella* spp.

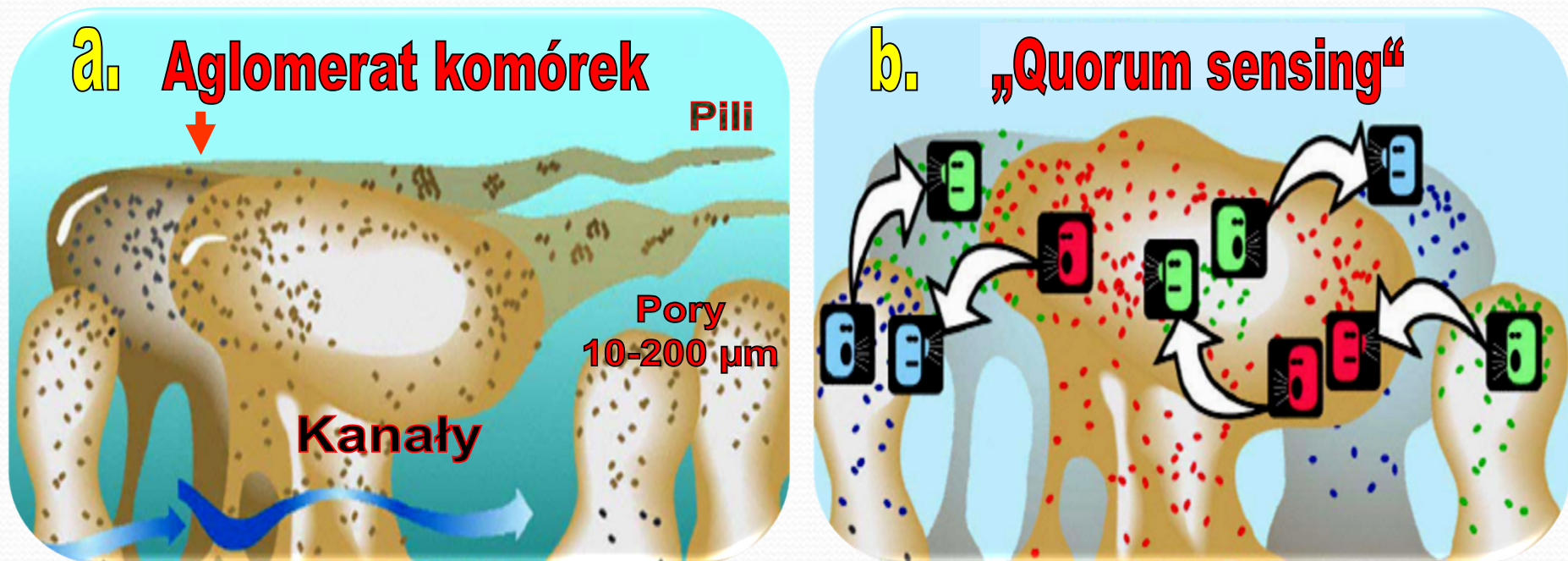


## Quorum sensing (QS)

QS jest to mechanizm „komunikacji” bakterii w środowisku hodowlanym, zależny od typu mikroorganizmu i gęstości populacji.

Bakterie Gram-negatywne, np. *Pseudomonas aeruginosa*, produkują substancję zwaną N-Acyl-Homoserin-Lactone (AHL) jako sygnałną cząsteczkę, tzw. *autoinducer*, charakterystyczną dla całego systemu mikrobiologicznego „*quorum sensing*”.

## Komunikacja, indukcja i interakcja pomiędzy bakteriami w systemie „quorum sensing“

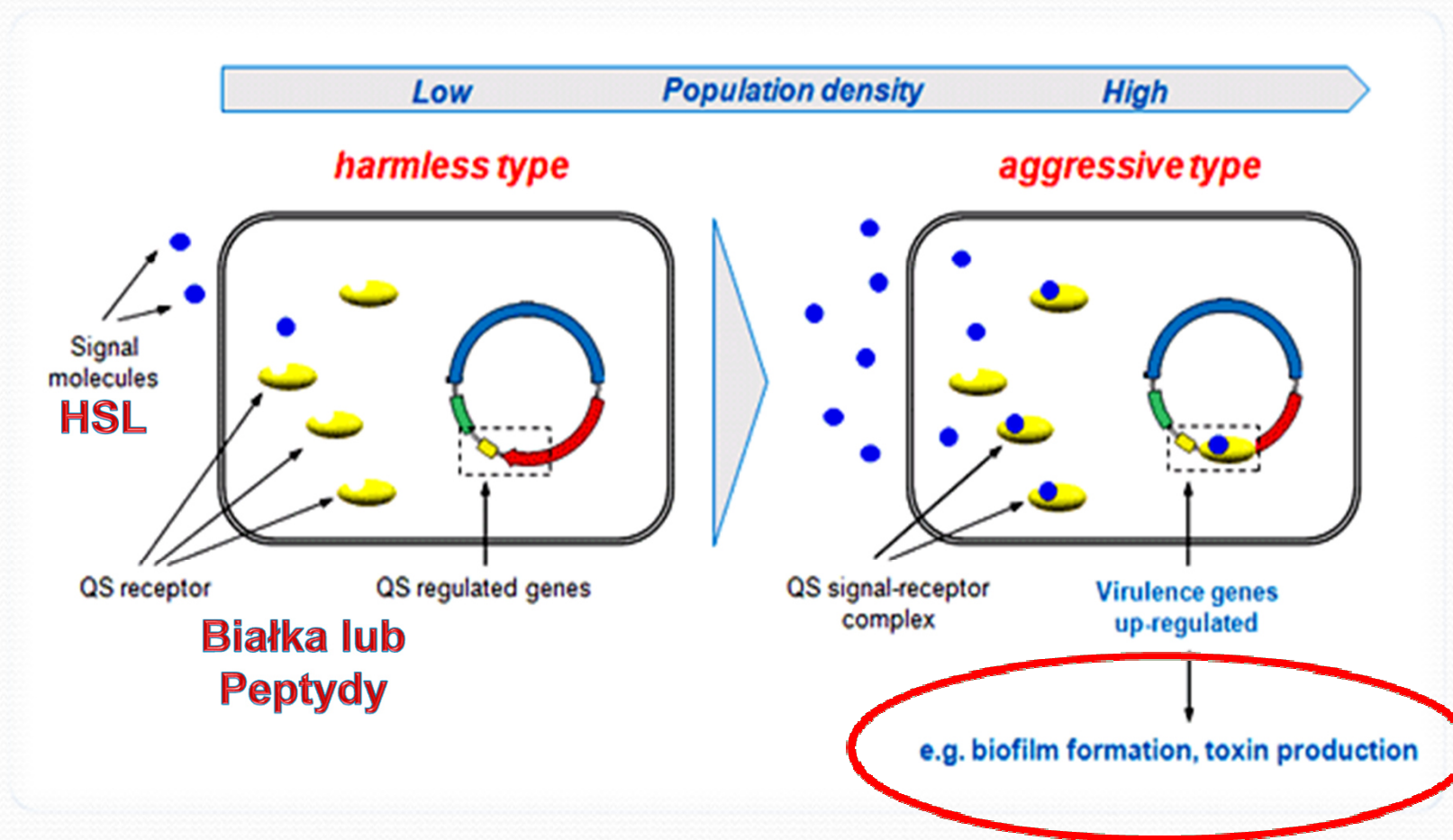


Nach Courtesy, MSU-CBE

Komunikacja poprzez sygnałne molekuly bakterii (od komórki do komórki)  
w biofilmie.

We are looking for who is „talking“ ???

## „Quorum sensing“: Produkcja biofilmu i toksyny



## Podsumowanie 2

Bakterie *L. pneumophila* nie rosną w obecności szybko generujących się i mało wymagających bakterii *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas* spp. czy *Stenotrophomonas* spp., które w tym przypadku są ewidentnymi **antagonistami**.

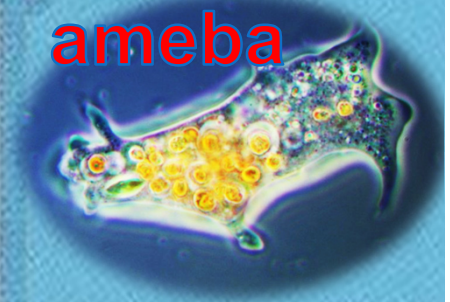
Natomiast inne gatunki bakterii, jak np. *Flavobacterium* spp., *Klebsiella* spp. czy *Pseudomonas fluorescens* wspomagają wzrost bakterii *Legionella* spp. (**efekt komensalizmu**).

Dziękuję za uwagę

w I części wykładu!



ameba



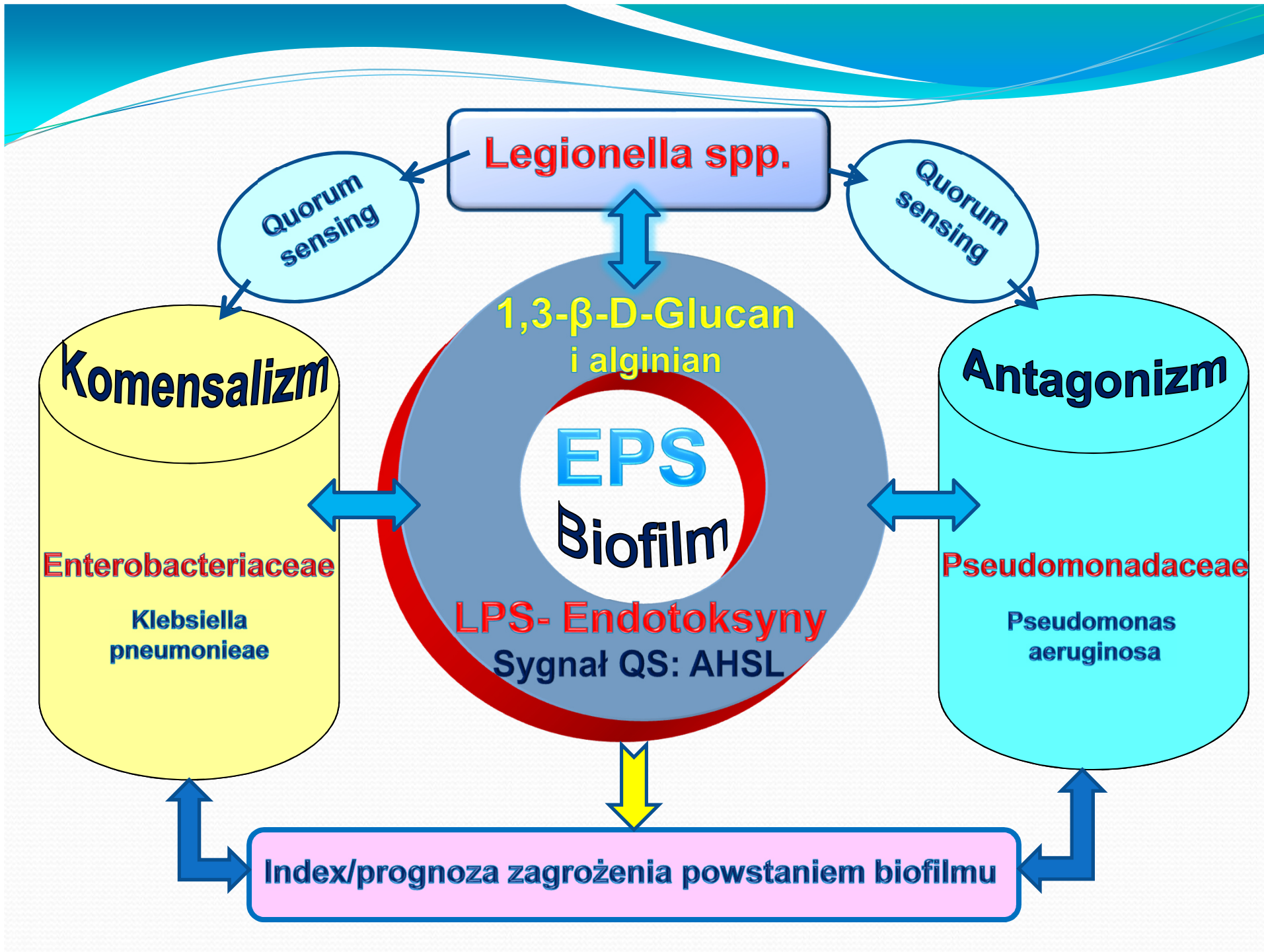
**Prognozowanie mikrobiologicznych problemów  
w technicznych systemach wodnych:  
Matematyczny model (Index) w formie  
„small software“**



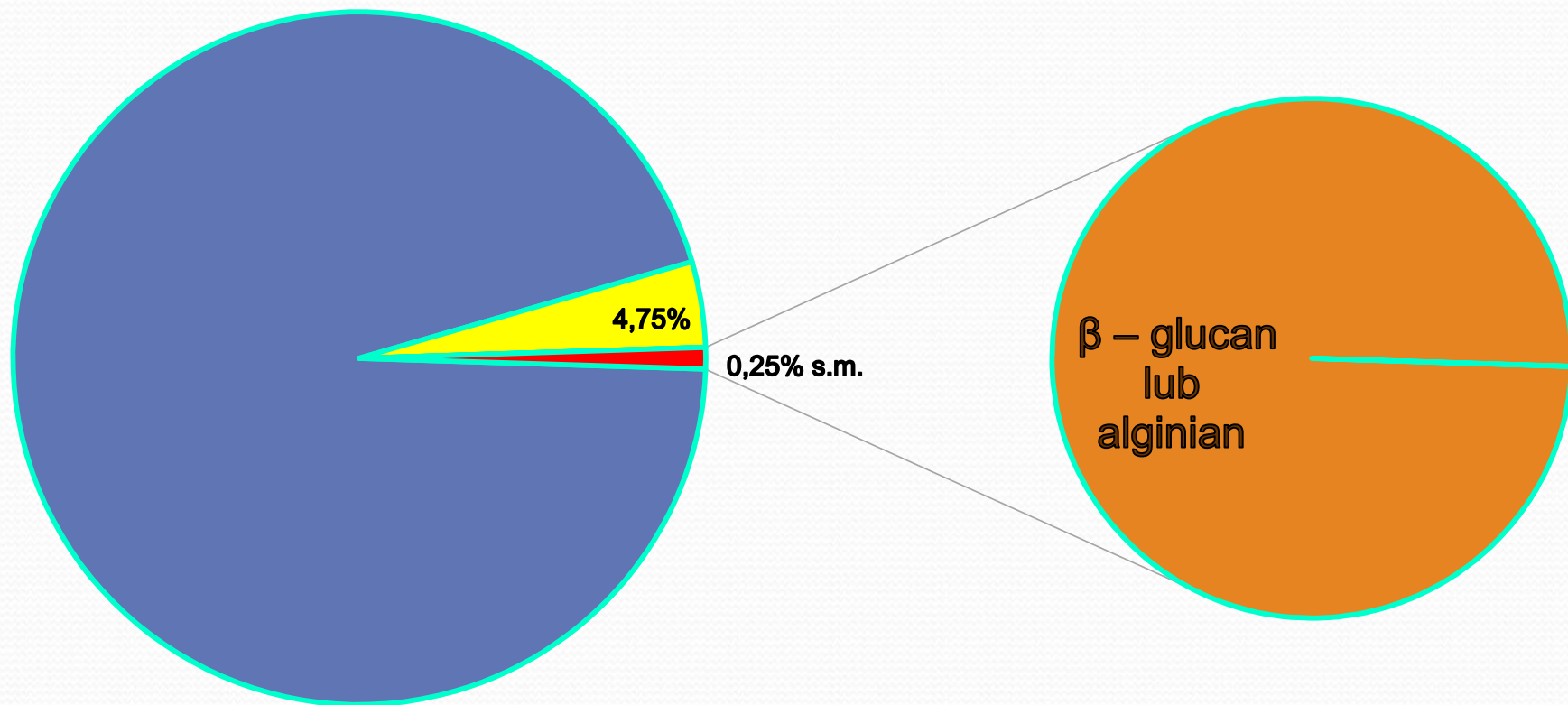
**Dr. habil. Anna Salek,  
International-Bio-Consulting & DOMATEC GmbH, Niemcy**

**XVIII SzTF, 14-15.04.2016, Kocierz**





## Biofilm to wodna struktura EPS (extracellular polymeric substances) i mikroorganizmów



Ponadto w biofilmie są różne cząsteczki organiczne i nieorganiczne.

## Matrix EPS biofilmu z *Pseudomonas aeruginosa*

Distribution	in cells	in EPS
Polysaccharides	19,8 %	79,2 %
Uronic acids	15,0 %	85,0 %
Proteins	58,4 %	41,6 %

### EPS-components

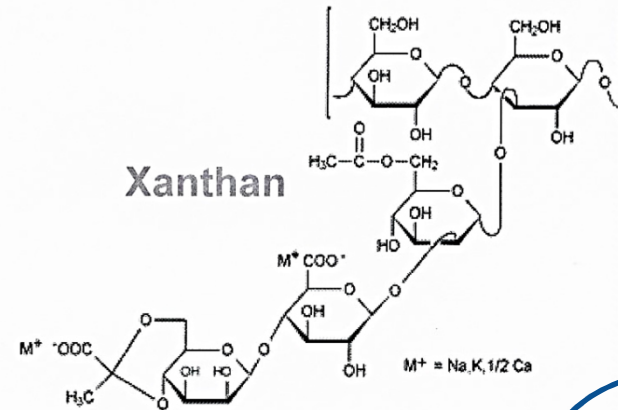
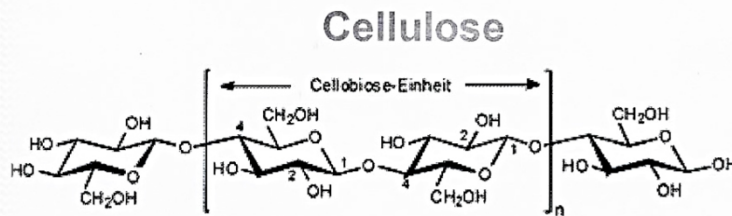
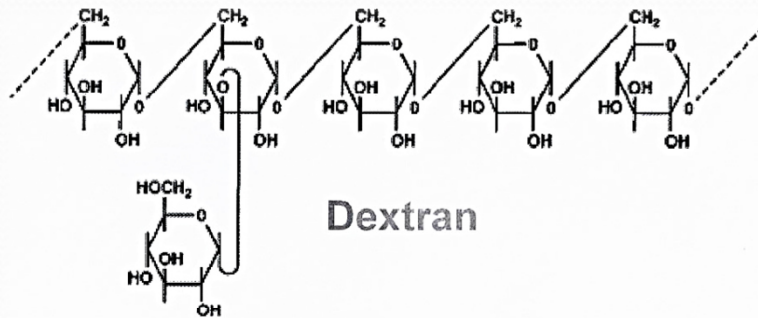
Polysaccharides	69,0 %
Lipopolysaccharides	0,5 %
Proteins	25,0 %
other components	5,5 %
[no nucleic acids detected]	

### Polysaccharides

Alginate	81,8 %
Neutral polysaccharides	18,2 %

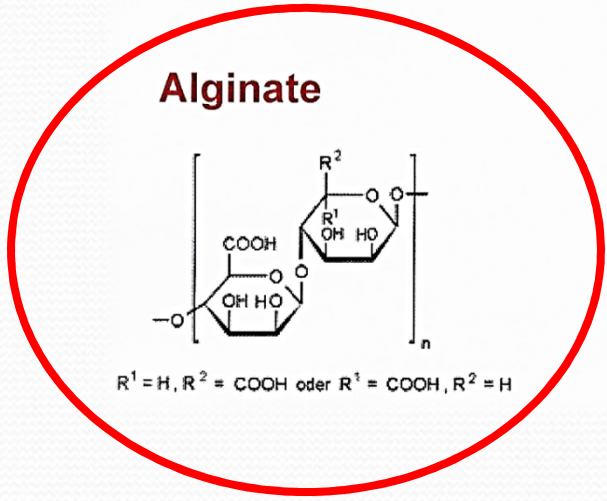


# Przykłady polisacharydów

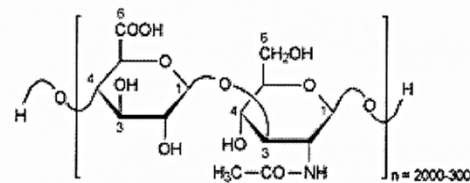


*Leuconostoc mesenteroides*

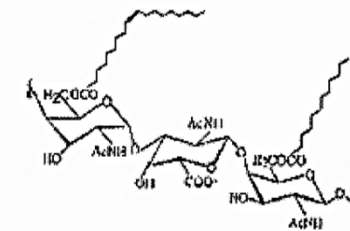
**Levan**



Hyaluronic acid



Emulsan



## Matrix EPS biofilmu z *Pseudomonas aeruginosa*

Distribution	in cells	in EPS
Polysaccharides	19,8 %	79,2 %
Uronic acids	15,0 %	85,0 %
Proteins	58,4 %	41,6 %

### EPS-components

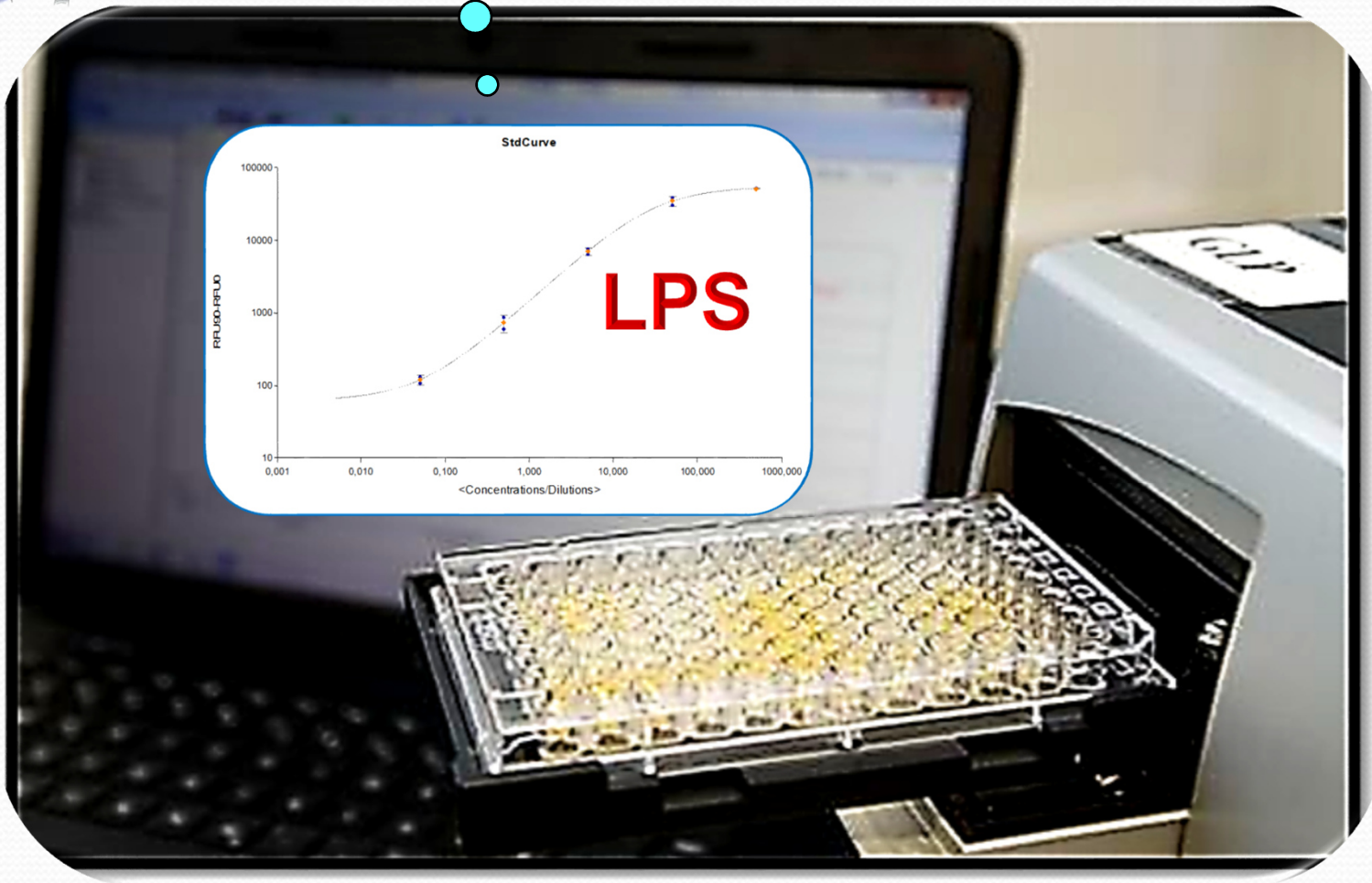
Polysaccharides	69,0 %
Lipopolysaccharides	0,5 %
Proteins	25,0 %
other components	5,5 %
[no nucleic acids detected]	

### Polysaccharides

Alginate	81,8 %
Neutral polysaccharides	18,2 %



Endotoksyny??



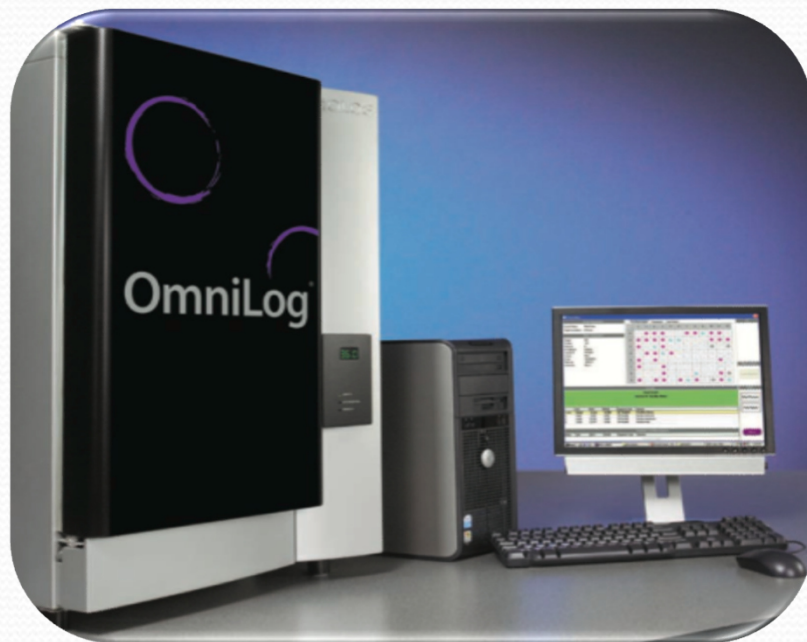
Kocierz, 14-15.04.2016

## Endotoksyny (lipopolisaccharydy, LPS) bakteryjne

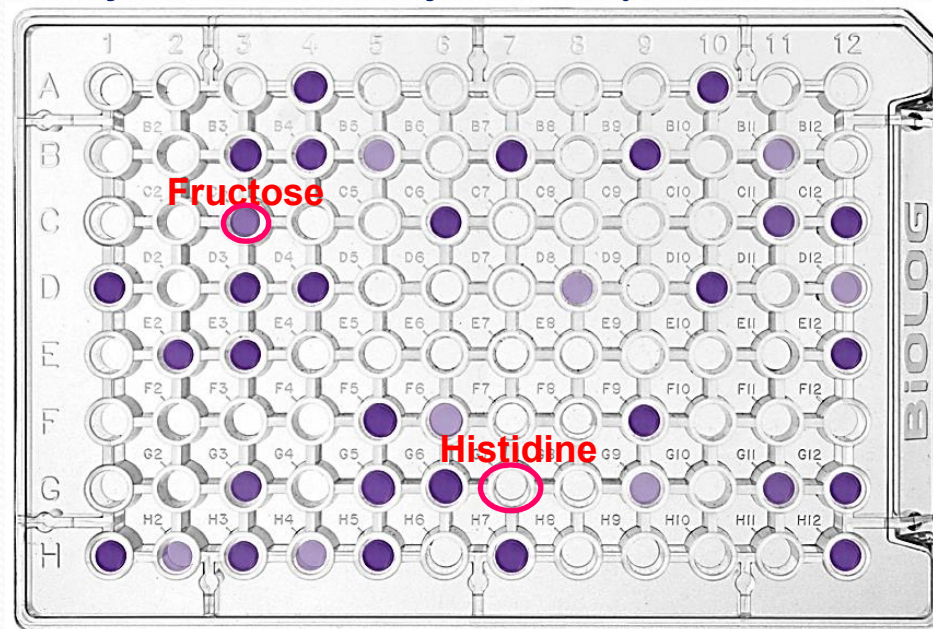
Stamm	Stężenie endotoksyn [EU Units/ml]	Stężenie LPS [ng LPS/ml]	API®	ID%	Inhibition [Ux10 <sup>3</sup> ]
2	66,3	6,625	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	86,7	3,38
5	>5250	>524,998	<i>Brevundimonas vesicularis</i>	83,7	7,41
8	79,8	7,9755	<i>Bacillus licheniformis</i>	88,4	13,81
9	>5250	>524,998	<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	72,3	44,98
11	>5250	>524,998	<i>Brevundimonas vesicularis</i>	98,5	48,59
38	>5250	>524,998	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	99,4	5,80
50	60,3	6,0600	<i>Ralstonia pickettii</i>	99	17,29
58	>5250	>524,998	<i>Brevundimonas vasicularis</i>	91,1	13,42
60	64,5	6,4530	<i>Comamonas testosteroni</i>	98,2	17,67
68	>5250	>524,998	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	91,4	3,44



## „Fingerprint” jako ID spośród 95 substratów



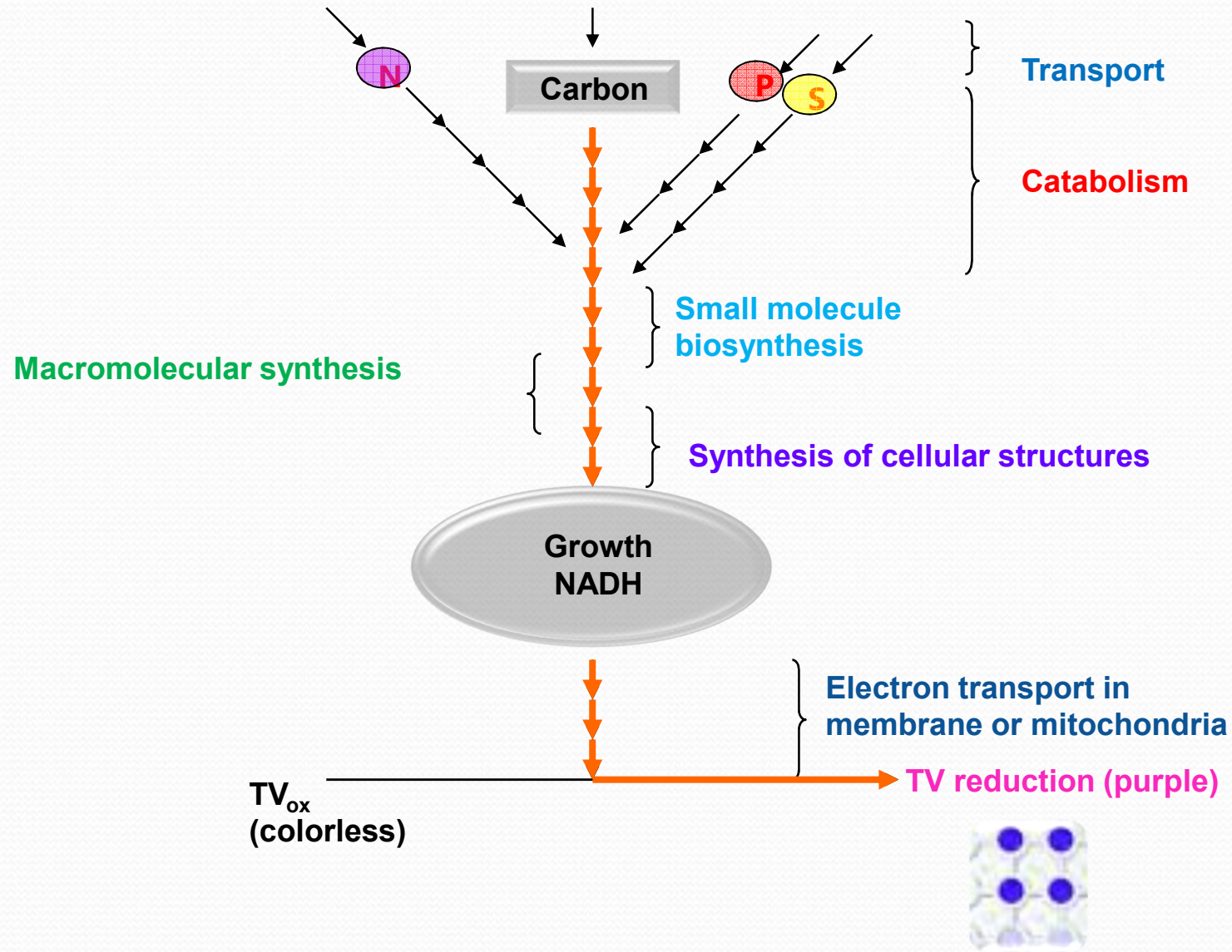
Oddychanie mierzone jest zmianą barwnika red-ox



„Studzienki“ płytki tytracyjnej (96) zawierają 95 różnych substratów i jedno wgłębienie (1 studzienkę) jako próbę kontrolną. Efekty metabolizmu (anabolizmu lub katabolizmu) mierzone są jako zmiany w potencjale redox, odpowiadające intensywności barwnika TTC.



# Oddychanie komórkowe: Metabolizm węgla (red-ox)

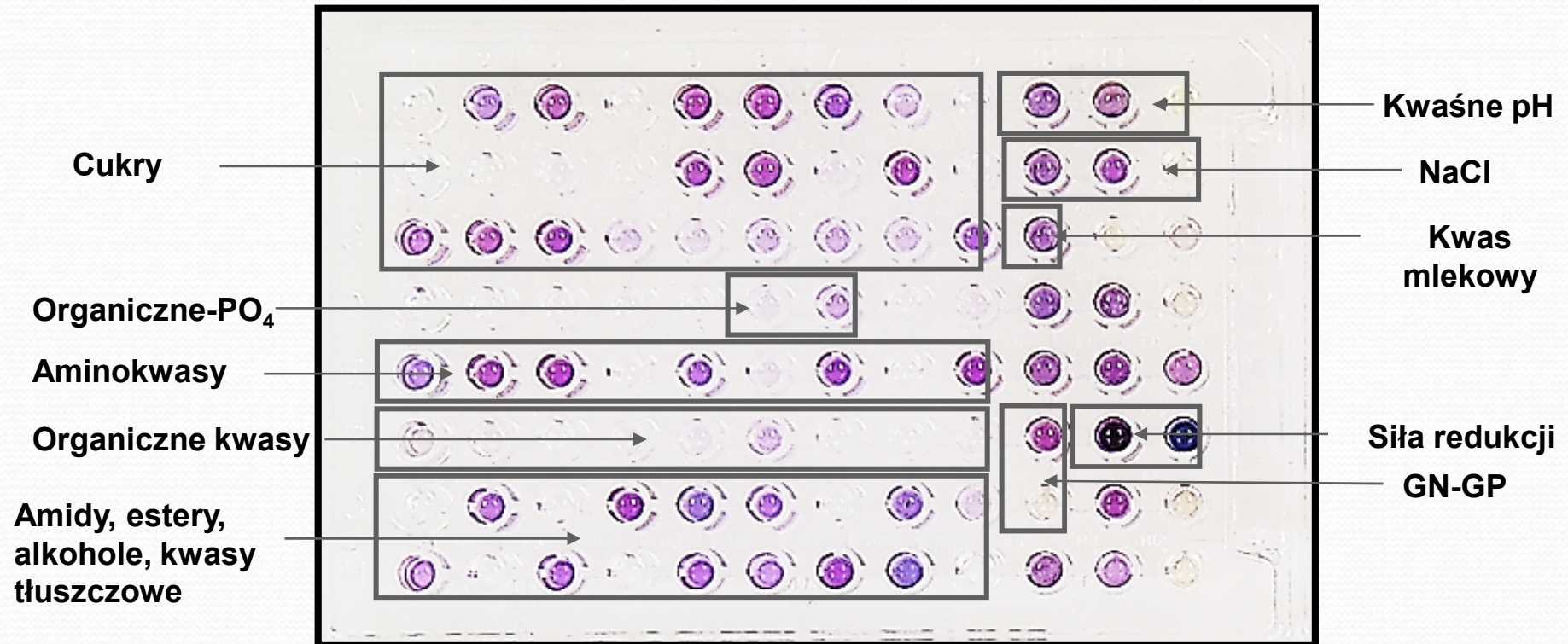


# BIOLOG GEN III MicroPlate™

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Negative Control	Dextrin	Maltose	<u>Trehalose</u>	<u>Cellobiose</u>	<u>Gentiobiose</u>	<u>Sucrose</u>	<u>Turanose</u>	<u>Stachyose</u>	Positive Control	pH 6	pH 5
B	Raffinose	$\alpha$ -Lactose	<u>Mellbiose</u>	$\beta$ -Methyl-Glucoside	Salicin	<u>Acetyl-Glucosamine</u>	<u>Acetyl-Mannosamine</u>	<u>Acetyl-Galactosamine</u>	<u>Acetyl Neuramic Acid</u>	1% NaCl	4% NaCl	8% NaCl
C	$\alpha$ -Glucose	<u>Mannose</u>	Fructose	<u>Galactose</u>	Methyl Glucose	<u>D-Frurose</u>	<u>L-Frurose</u>	<u>Rhamnose</u>	<u>Inosine</u>	1% Sodium Lactate	<u>Fusidic Acid</u>	<u>Serine</u>
D	<u>Sorbitol</u>	<u>Mannitol</u>	<u>Arabitol</u>	<u>myo-Inositol</u>	<u>Glycerol</u>	Glucose-6-PO <sub>4</sub>	Fructose-6-PO <sub>4</sub>	<u>Aspartic Acid</u>	<u>D-Serine</u>	<u>Troleandomycin</u>	<u>Rifamycin</u>	<u>Minocycline</u>
E	<u>Gelantin</u>	<u>Glycyl-Proline</u>	Alanin	Arginin	<u>Aspartic Acid</u>	<u>Glutamic Acid</u>	Histidine	<u>Pyroglutamic Acid</u>	<u>L-Serine</u>	<u>Linomycin</u>	<u>Guanidine HCl</u>	Niaproof® 4
F	<u>Pectin</u>	<u>Galacturonic Acid</u>	<u>Galactonic Acid Lactone</u>	<u>Gluconic Acid</u>	<u>Glucuronic Acid</u>	<u>Glucuronamide</u>	<u>Mucic Acid</u>	<u>Quinic Acid</u>	<u>Saccharic Acid</u>	<u>Vancomycin</u>	<u>Tetrazolium Violet</u>	<u>Tetrazolium Blue</u>
G	<u>Hydroxy-Phenylacetic Acid</u>	<u>Methyl Pyruvate</u>	<u>Lactic Acid Methyl Ester</u>	<u>Lactic Acid</u>	Citric Acid	<u><math>\alpha</math>-Keto-Glutaric Acid</u>	D-Malic Acid	L-Malic Acid	<u>Bromo-Succinic Acid</u>	<u>Nalidixic Acid</u>	Lithium Chloride	Potassium Tellurite
H	<u>Tween 40</u>	<u><math>\gamma</math>-Amino-Butyric-Acid</u>	<u><math>\alpha</math>-Hydroxy-Butyric Acid</u>	<u><math>\beta</math>-Hydroxy-Butyric Acid</u>	<u><math>\alpha</math>-Keto-Butyric Acid</u>	<u>Acetoacetic Acid</u>	<u>Propionic Acid</u>	<u>Acetic Acid</u>	<u>Formic Acid</u>	<u>Aztreonam</u>	<u>Sodium Butyrate</u>	<u>Sodium Bromate</u>

# BIOLOG GEN III MicroPlate™

Lokalizacja substratów: cukry, estry, aminy, aminokwasy ...



71 źródeł węgla + 23 innych organicznych substancji metabolizmu

# Inhibitor: *Bacillus licheniformis* - BIOLOG-System

Organism Type	GP-Rod-SB
Family	Bacillaceae
Species	<i>Bacillus licheniformis</i>
Protocol	B

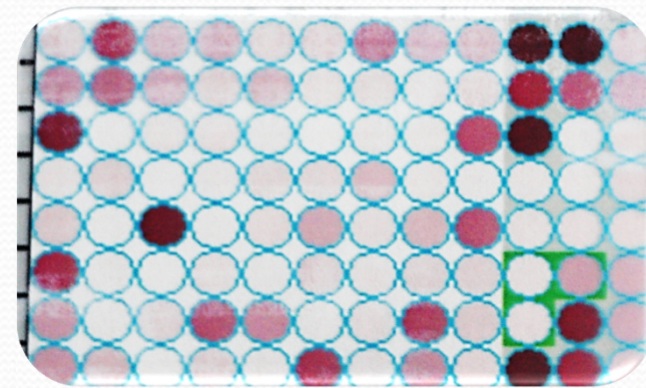
Average Maximum Positive (Graphic with 55/45 Cutoff)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	○	●	●	●	○	○	●	●	○	●	●	●
B	○	○	○	●	●	●	○	○	○	●	●	●
C	●	●	●	○	○	○	○	○	○	●	○	●
D	●	●	○	●	●	○	○	○	○	○	○	○
E	●	○	●	○	○	●	○	○	○	●	●	○
F	●	●	○	●	○	○	●	○	○	○	○	○
G	○	○	○	●	●	○	○	●	○	●	●	●
H	○	○	○	○	○	●	○	○	○	●	●	○

Average Maximum Positive (Percent)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0	79	62	81	12	29	81	49	30	100	100	79
B	24	0	18	76	88	72	0	0	0	94	91	86
C	61	79	81	18	0	0	0	19	5	99	9	61
D	65	73	0	65	68	0	2	25	0	8	10	12
E	69	35	48	19	35	49	0	18	18	63	84	9
F	79	69	0	75	37	31	46	0	33	8	21	18
G	0	25	0	61	89	4	14	88	20	66	97	100
H	36	45	7	0	1	63	6	19	0	100	99	21

%%



TTC - redox

# BIOLOG GEN III MicroPlate™

Biolog Gen III ID Database
\_ □ ×

Gram

GN     GP

Index	Gram	Species	Protocol
228	GN	Edwardsiella hoshinae	A
229	GN	Edwardsiella ictaluri	A
230	GN	Edwardsiella tarda	A
231	GN	Eikenella corrodens	C2
232	GN	Elizabethkingia meningoseptica	A
233	GN	Elizabethkingia meningoseptica	B
234	GN	Empedobacter brevis	A
235	GN	Empedobacter brevis	B
236	GN	Ensifer meliloti	A
237	GN	Enterobacter aerogenes (Kleb. mobilis)	A
238	GN	Enterobacter aerogenes (Kleb. mobilis)	B
239	GN	Enterobacter amnigenus	A
240	GN	Enterobacter asburiae	A
241	GN	Enterobacter cancerogenus	A
242	GN	<b>Enterobacter cloacae ss cloacae</b>	A
243	GN	Enterobacter cloacae ss dissolvens	A
244	GN	Enterobacter cowanii	A
245	GN	Enterobacter gergoviae	A
246	GN	Enterobacter helveticus	A
247	GN	Enterobacter hormaechei	A
248	GN	Enterobacter kobei	A
249	GN	Enterobacter nimipressuralis	A
250	GN	Enterobacter pulveris	A
251	GN	Enterobacter turicensis	A
252	GN	Erwinia amylovora	A
253	GN	Escherichia albertii	A

Organism Type	GN-Ent
Family	Enterobacteriaceae
Species	Enterobacter cloacae ss cloacae
Protocol	A

Average Maximum Positive (Percent)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0	55	77	78	81	77	80	11	77	100	100	99
B	77	75	78	77	76	85	83	82	4	93	82	69
C	73	77	77	81	4	1	7	78	77	91	41	67
D	76	76	0	73	78	81	82	0	79	87	97	47
E	0	79	74	59	80	80	76	29	79	86	91	97
F	71	83	0	82	84	64	21	0	77	97	100	100
G	8	65	0	79	79	0	0	78	46	17	83	48
H	20	0	13	70	0	19	0	71	0	81	91	53

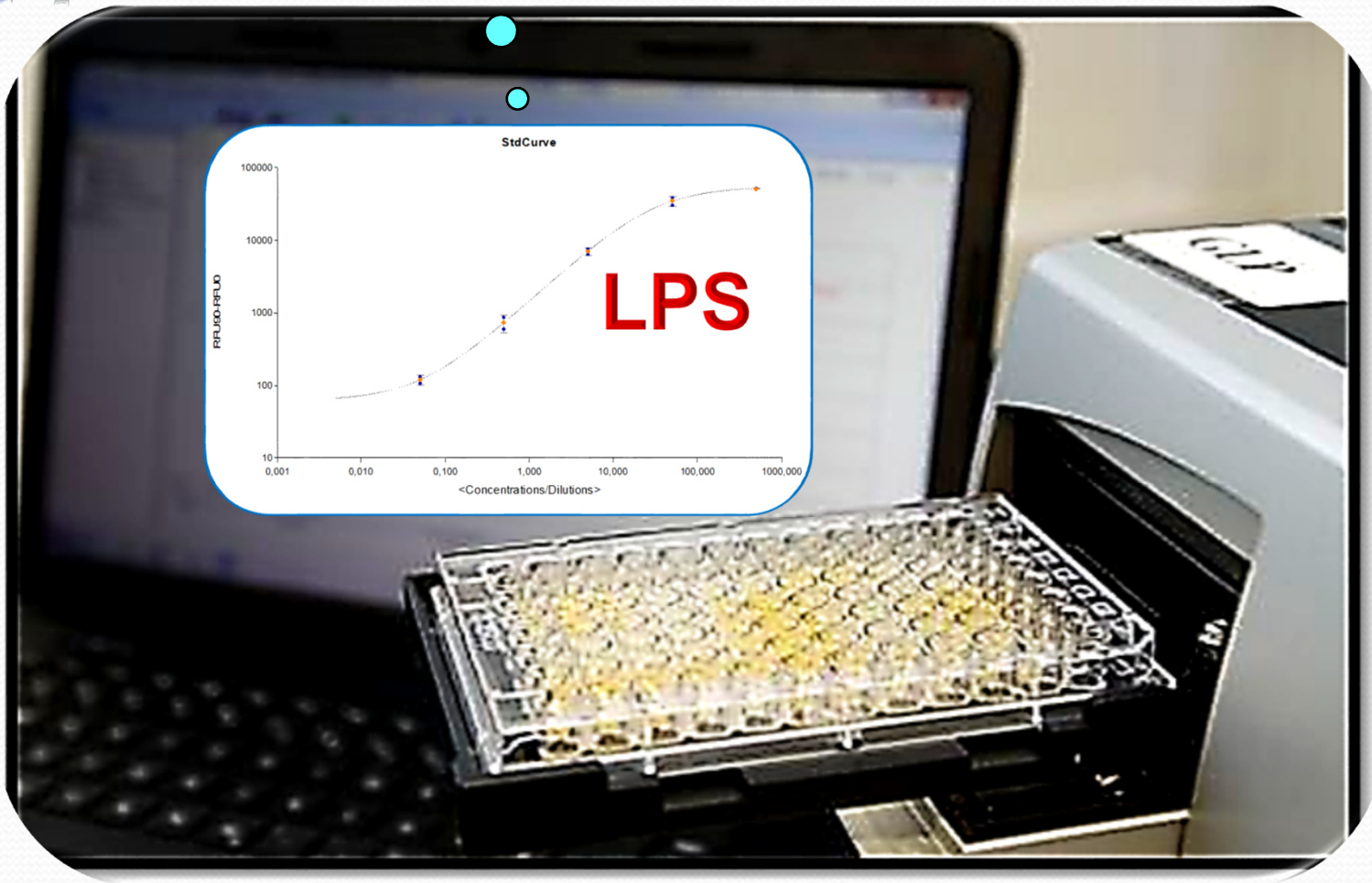
Print Species Data
Close

## Mikroflora towarzysząca bakteriom *Legionella* spp.

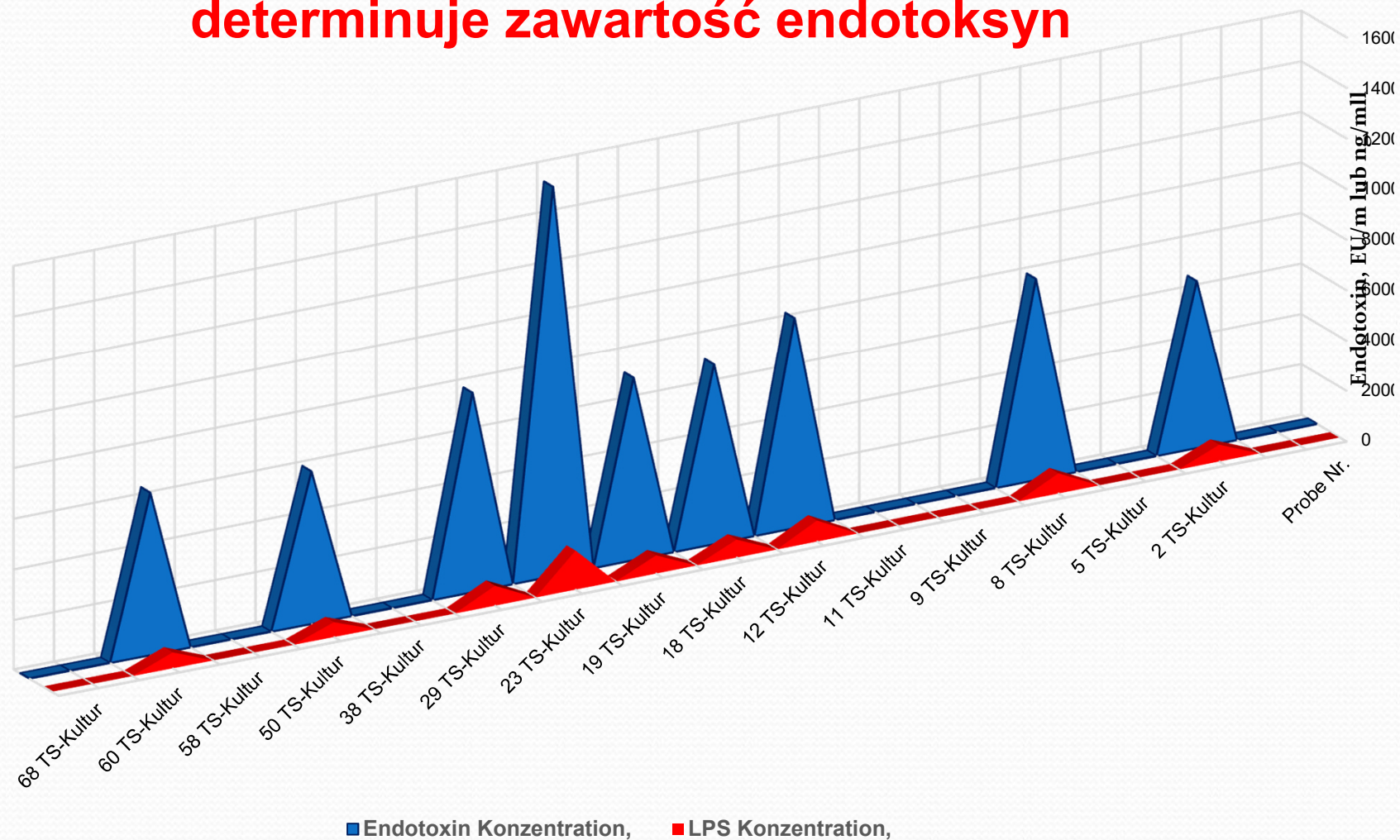
Stamm	24h BIOLOG-System-GENIII				44/48h BIOLOG-System-GENIII			
	33°C	%ID	37°C	%ID	33°C	%ID	37°C	%ID
6	Bacillus licheniformis	73,8		-	Bacillus marisflavi	73,8		-
7	Bacillus licheniformis	74,3		-	Bacillus licheniformis	89,4		-
8	Bacillus licheniformis	92,6		-	Bacillus licheniformis	94,0		-
12	Bacillus clausii	85,4		-	Bacillus clausii	85,4		-
56	Microbacterium maritpicum	96,2		-		-		-
58	Streptococcus agalactiae	91,1		-		-		-
69	Micrococcus yunnanensis	91,2	Micrococcus yunnanensis	79,4	Micrococcus yunnanensis	91,2		-
72	Staphylococcus aureus	97,3	Staphylococcus aureus	93,5		-	Streptococcus aureus	92,2
86	Brevibacillus formosus	96,9	Brevibacillus formosus	96,9		-	Brevibacillus formosus	92,3
87	Pseudomonas aeruginosa	97,6	Pseudomonas aeruginosa	99,8		-	Pseudomonas aeruginosa	99,7
108	Pseudomonas aeruginosa	99,8	Pseudomonas aeruginosa	99,8		-	Pseudomonas aeruginosa	99,8
117	Pseudomonas aeruginosa	99,8	Pseudomonas aeruginosa	99,8		-	Pseudomonas aeruginosa	100,0
118	Bacillus licheniformis	69,9	Bacillus licheniformis	76,7		-	Bacillus licheniformis	97,0
123	Pseudomonas stutzeri	99,2		-		-		-
124	-	-	Pseudomonas stutzeri	94,2		-		-
128	Bacillus licheniformis	95,5		-		-		-
142	-	-	Staphylococcus epidermidis	99,7		-	Staphylococcus epidermidis	99,9



**Fluorescencyjny pomiar endotoksyn**



# Poziom bakterii Gram-ujemnych w wodzie chłodniczej determinuje zawartość endotoksyn





## Endotoksyny (lipopolisaccharydy, LPS) bakteryjne

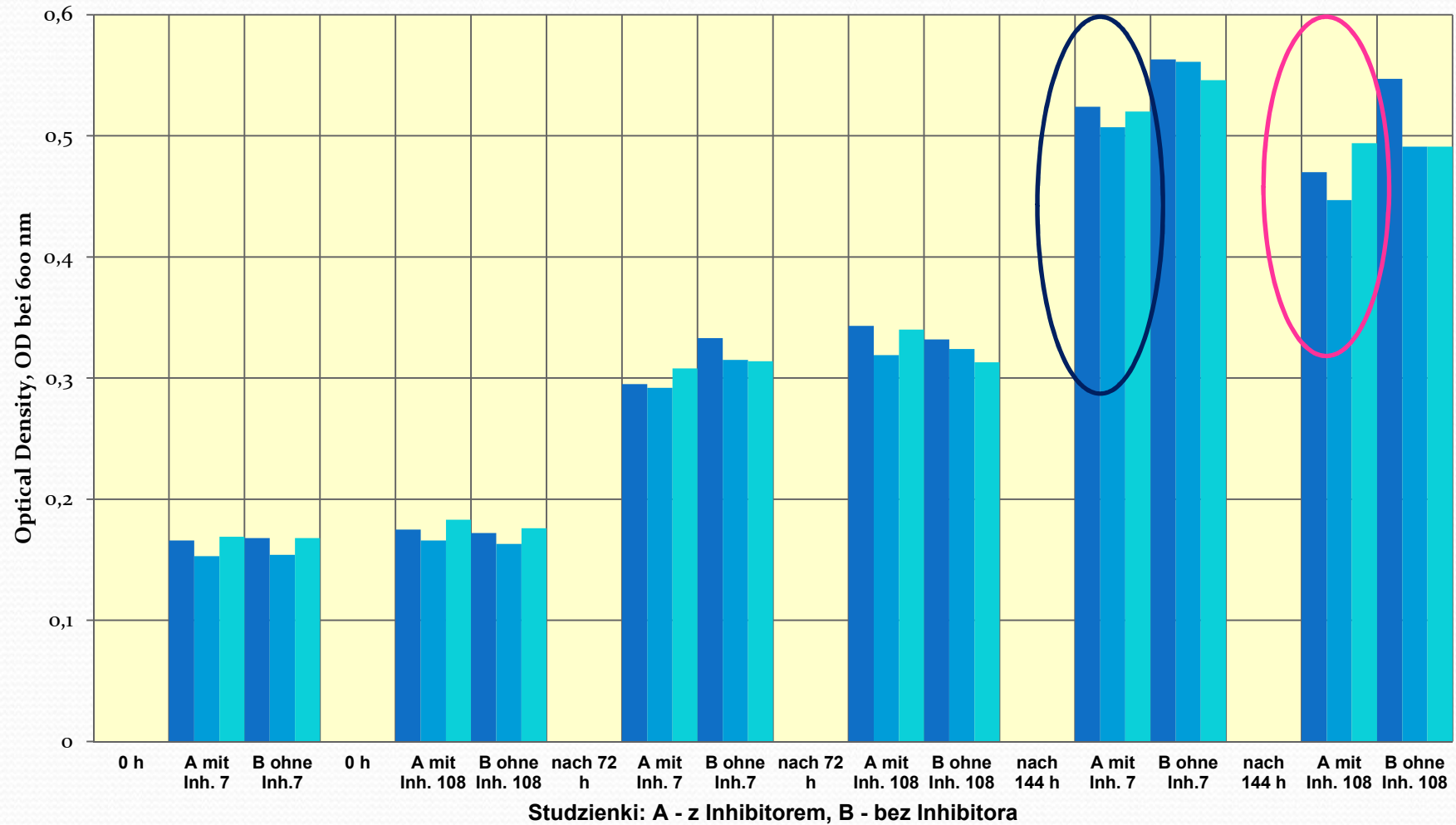
Stamm	Stężenie endotoksyn [EU Units/ml]	Stężenie LPS [ng LPS/ml]	API®	ID%	Inhibition [Ux10 <sup>3</sup> / ml]
2	66,3	6,625	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	86,7	3,38
5	>5250	>524,998	<i>Brevundimonas vesicularis</i>	83,7	7,41
8	79,8	7,9755	<i>Bacillus licheniformis</i>	88,4	13,81
9	>5250	>524,998	<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	72,3	44,98
11	>5250	>524,998	<i>Brevundimonas vesicularis</i>	98,5	48,59
38	>5250	>524,998	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	99,4	5,80
50	60,3	6,0600	<i>Ralstonia pickettii</i>	99	17,29
58	>5250	>524,998	<i>Brevundimonas vasicularis</i>	91,1	13,42
60	64,5	6,4530	<i>Comamonas testosteroni</i>	98,2	17,67
68	>5250	>524,998	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	91,4	3,44



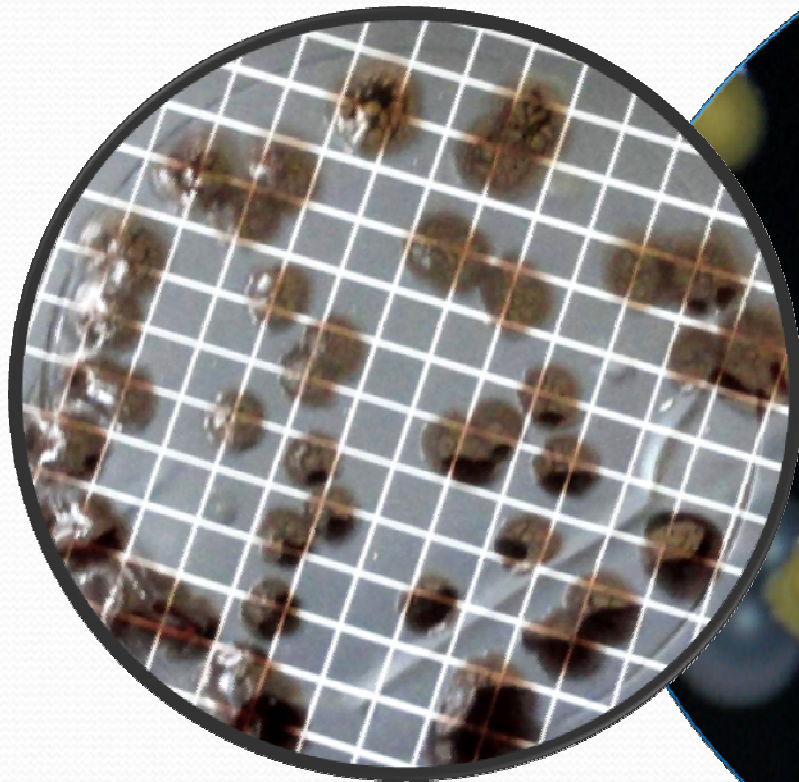
**Główne inhibitory bakteryjne:  
*P. aeruginosa* i *Bacillus licheniformis*  
Hemoliza bakterii *Legionella pneumophila* SG. 1**



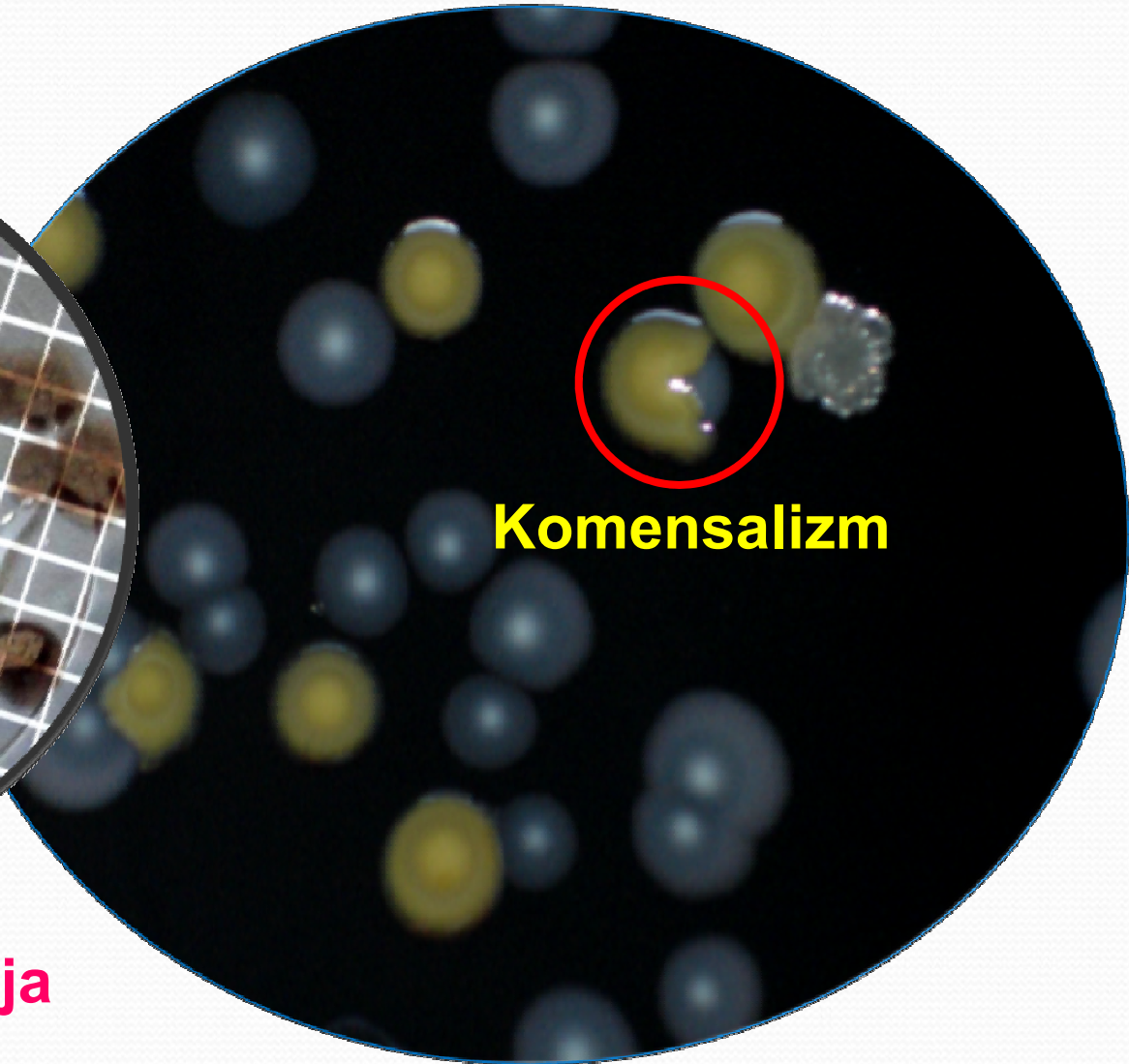
## Wzrost bakterii *Legionella pneumophila* z inhibitorem i bez: Nr. 7 (*P. aeruginosa*) & Nr. 108 (*B. licheniformis*)



***Legionella pneumophila* serogrupy 1 z *Flavobacterium* sp.**

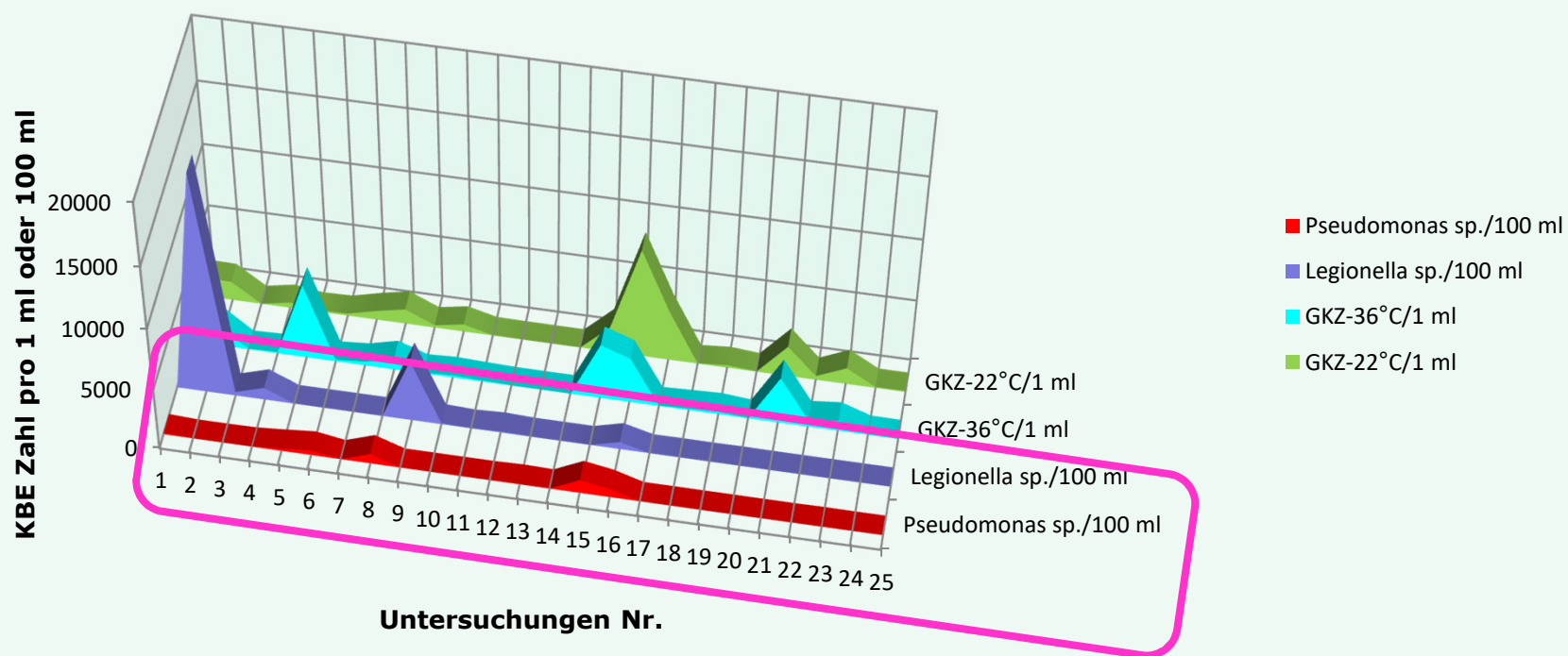


**Antagonizm/Inhibicja**



**Komensalizm**

## Korrelacja pomiędzy mikroorganizmami w przemysłowym obiegu wody chłodniczej



Salek, 2013

## System BIOLOG GEN III MicroPlate™

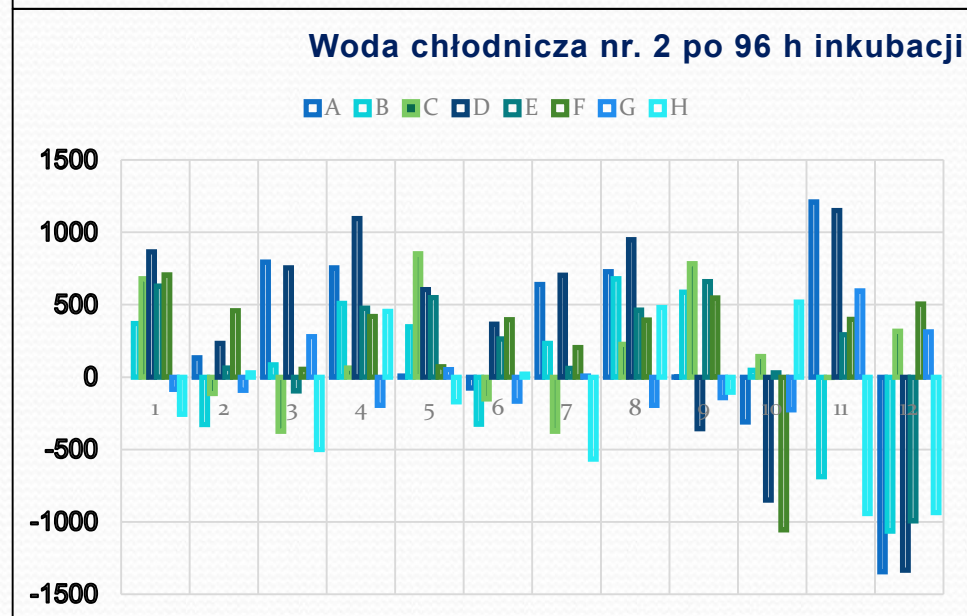
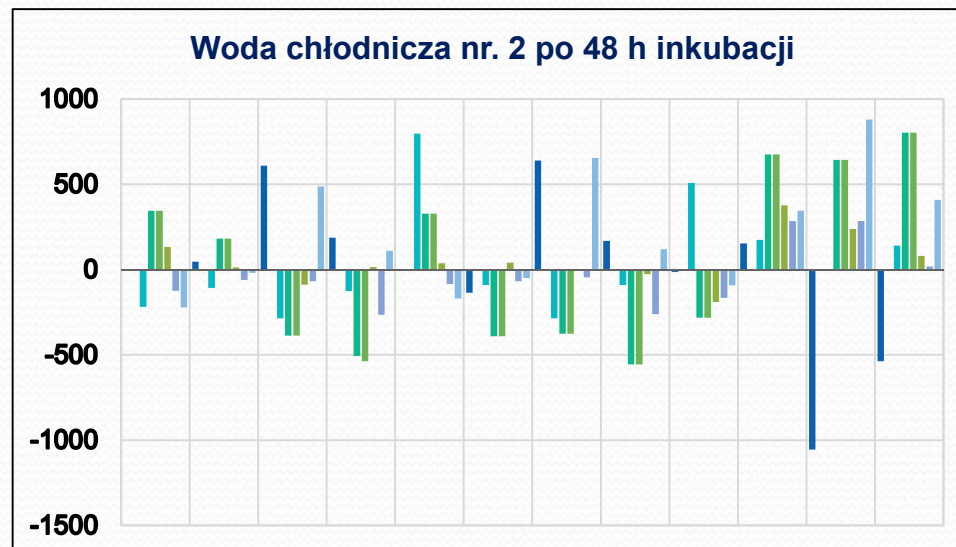


Kocierz, 14-15.04.2016

# BIOLOG GEN III EcoPlate™

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Wasser	β-Methyl-D-Glukosid	D-Galactonsäure γ-Lacton	L-Arginin	Wasser	β-Methyl-D-Glukosid	D-Galactonsäure γ-Lacton	L-Arginin	Wasser	β-Methyl-D-Glukosid	D-Galactonsäure γ-Lacton	L-Arginin
B	Brenztraubensäure Methyl Ester	D-Xylose	D-Galacturonsäure	L-Aspargin	Brenztraubensäure Methyl Ester	D-Xylose	D-Galacturonsäure	L-Aspargin	Brenztraubensäure Methyl Ester	D-Xylose	D-Galacturonsäure	L-Aspargin
C	Tween 40	i-Erythritol	2-Hydroxy Benzoessäure	L-Phenylalanin	Tween 40	i-Erythritol	2-Hydroxy Benzoessäure	L-Phenylalanin	Polysorbat 40	i-Erythritol	2-Hydroxy Benzoessäure	L-Phenylalanin
D	Tween 80	D-Mannitol	4-Hydroxy Benzoessäure	L-Serin	Tween 80	D-Mannitol	4-Hydroxy Benzoessäure	L-Serin	Polysorbat 80	D-Mannitol	4-Hydroxy Benzoessäure	L-Serin
E	α-Cyclodextrin	N-Acetyl-D-Glucosamin	γ-Hydroxy-Buttersäure	L-Threonin	α-Cyclodextrin	N-Acetyl-D-Glucosamin	γ-Hydroxy-Buttersäure	L-Threonin	α-Cyclodextrin	N-Acetyl-D-Glucosamin	γ-Hydroxy-Buttersäure	L-Threonin
F	Glykogen	D-Glukosaminsäure	Itaconsäure	Glycyl-L-Glutaminsäure	Glykogen	D-Glukosaminsäure	Itaconsäure	Glycyl-L-Glutaminsäure	Glykogen	D-Glukosaminsäure	Itaconsäure	Glycyl-L-Glutaminsäure
G	D-Cellobiose	Glucose-1-Phosphat	A-Ketobuttersäure	Phenylethylamin	D-Cellobiose	Glucose-1-Phosphat	A-Ketobuttersäure	Phenylethylamin	D-Cellobiose	Glucose-1-Phosphat	A-Ketonuttersäure	Phenylethylamin
H	α-D-Glukose	D,L-α-Glycerin Phosphat	D-Apfelsäure	Putrescin	α-D-Glukose	D,L-α-Glycerin Phosphat	D-Apfelsäure	Putrescin	α-D-Glukose	D,L-α-Glycerin Phosphat	D-Apfelsäure	Putrescin

# System wody chłodniczej: Biokontrola: BIOLOG-EcoPlate





# BIOFILM Antibody (ELISA – Fluorescence – Antibody)

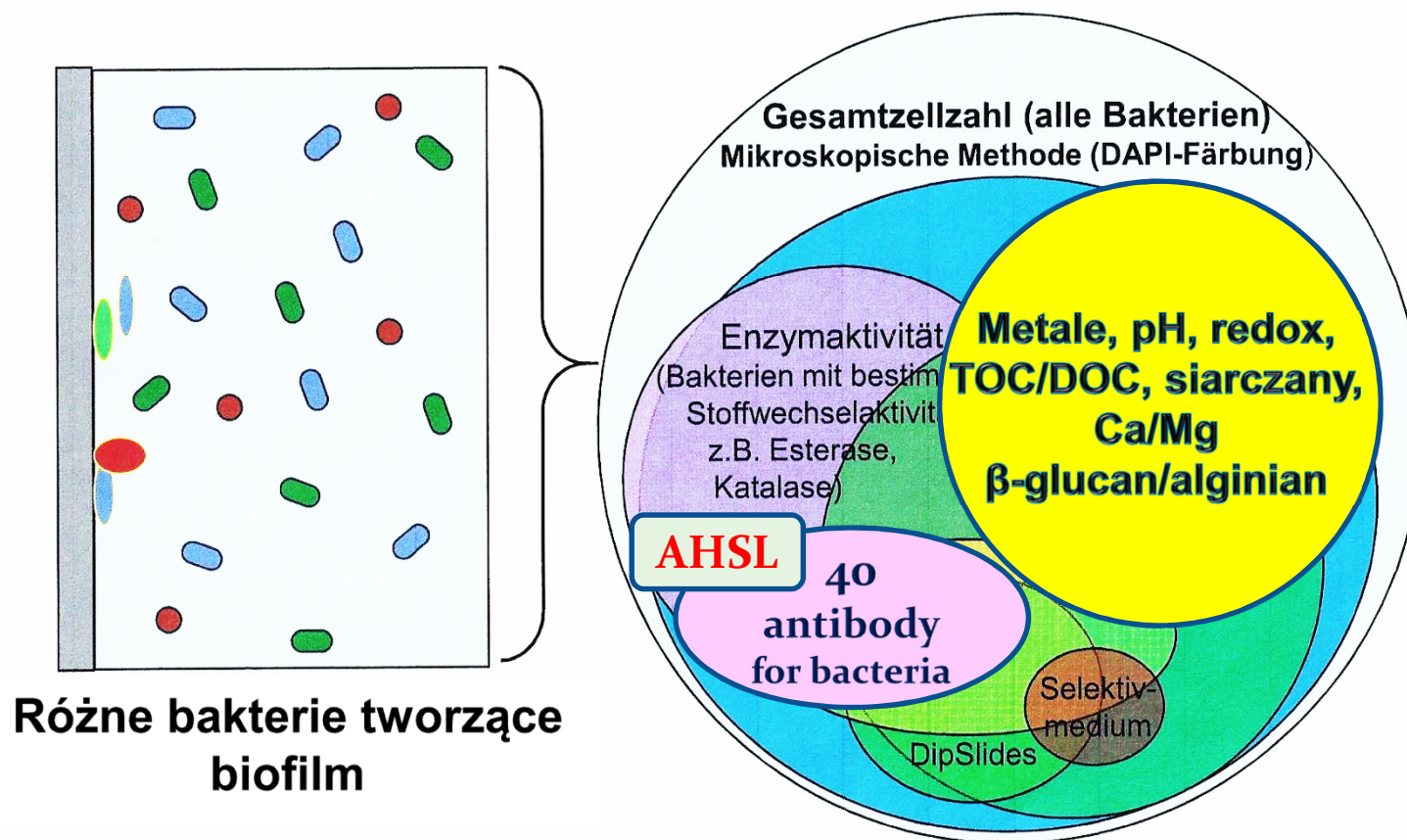
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Wasser	1	1	2	2	3	3	4	4	5	5	Wasser
B	Buffer	6	6	7	7	8	8	9	9	10	10	Buffer
C	Wasser	11	11	12	12	13	13	14	14			Wasser
D	Buffer	16	16	17	17	18	18	19	19	20	20	Buffer
E	Wasser	21	21	22	22	23	23	24	24	25	25	Wasser
F	Buffer	26	26	27	27	28	28	29	29	30	30	Buffer
G	Wasser	31	31	32	32	33	33	34	34	35	35	Wasser
H	Buffer	36	36	37	37	38	38	39	39	40	40	Buffer

**40 antibody for  
biofilm bacteria  
and fungi**

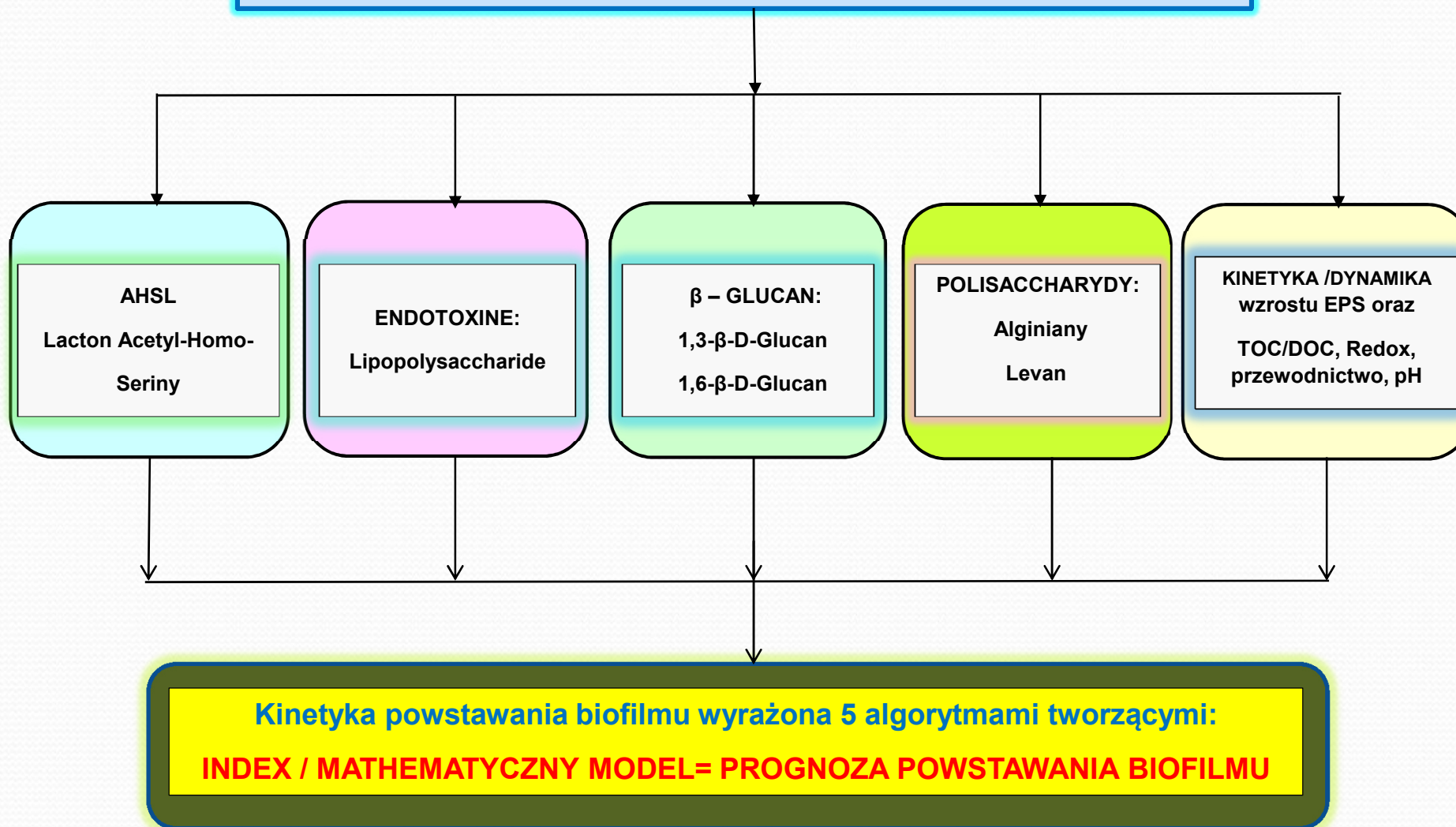
## Główni gospodarze biofilmu w wodach chłodniczych

Stamm	Stężenie endotoksyn [EU Units/ml]	Stężenie LPS [ng LPS/ml]	API®	ID%	Inhibition [Ux10 <sup>3</sup> / ml]
2	66,3	6,625	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	86,7	3,38
5	>5250	>524,998	<i>Brevundimonas vesicularis</i>	83,7	7,41
6	10		<i>Flavobacterium</i>		
8	79,8	7,9755	<i>Bacillus licheniformis</i>	88,4	13,81
9	>5250	>524,998	<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	72,3	44,98
11	>5250	>524,998	<i>Brevundimonas vesicularis</i>	98,5	48,59
12	83,2	8,3145	<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	66	4,79
18	70,9	7,0930	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	99,8	2,36
19	72,0	7,1980	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	99,9	31,91
38	>5250	>524,998	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	99,4	5,80
50	60,3	6,0600	<i>Ralstonia pickettii</i>	99	17,29
58	>5250	>524,998	<i>Brevundimonas vasicularis</i>	91,1	13,42
60	5		<i>Klebsiella pneumoniae</i>		
68	>5250	>524,998	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	91,4	3,44

## Matematyczny model obejmuje następujące parametry biologiczne oraz fizyko-chemiczne:



# INDEX = PROGNOZA GENERACJI BIOFILMU





**Dziękuję za uwagę!**

**Dr. habil. Anna Salek**

**domatec GmbH/International-Bio-Consulting**

Mühlbauerstraße 6 | 84453 Mühldorf

T +49 8631 1676 251 | F +49 8631 1676 259

[anna.salek@domatec.info](mailto:anna.salek@domatec.info)/[anna.salek@t-online.de](mailto:anna.salek@t-online.de)

<http://www.domatec.info/international-bio.consulting.com>