

POPULARNONAUKOWE STRESZCZENIE PROJEKTU

Clostridium difficile jest przyczyną jednego z najczęstszych zakażeń szpitalnych, czyli biegunki poantybiotykowej, która może się rozwinąć w rzekomobłoniaste zapalenie jelit i rozdęcie okrężnicy, co w wielu przypadkach prowadzi do śmierci pacjenta. Zakażenie bakterią *C. difficile* (CDI) jest szczególnie niebezpieczne dla ludzi starszych, u których powoduje największą śmiertelność. W Polsce częstość zakażeń bakterią *C. difficile* jest dużo wyższa niż średnia europejska i wynosi 76 przypadków na 10 000 szpitalnych przyjęć. Poziom śmiertelności u chorych, u których stwierdzono rzekomobłoniaste zapalenie jelit, wynosi 6-30% i utrzymuje się również na wysokim poziomie u pacjentów, u których nie zdiagnozowano wcześniej rzekomobłoniastego zapalenia jelit. W Stanach Zjednoczonych koszty leczenia jednego pacjenta zakażonego *C. difficile* wynoszą 2 000-72 000 \$, a walka z biegunkami wywołanymi zakażeniem *C. difficile* wynosi rocznie około 1,1 miliarda dolarów. Warto odnotować, że coraz więcej chorych zakaża się poza jednostkami opieki medycznej.

Infekcja zwykle powstaje w trakcie kuracji antybiotykowej, która zaburza skład naturalnej mikroflory jelitowej człowieka, a to stwarza dogodne warunki do kolonizacji jelit. Leczenie polega przede wszystkim na odstawieniu antybiotyków, które były podawane do czasu wystąpienia zakażenia co pomaga zwykle u 23% pacjentów. W razie braku poprawy stosuje się antybiotyki w postaci metronidazolu lub wankomycyny.

C. difficile posiada wiele czynników wirulencji, przez co jest patogenem trudnym do zwalczania. Wiele grup badawczych pracuje nad nowymi sposobami zwalczania tego drobnoustroju, będącymi alternatywą dla antybiotyków. Nie wprowadzono jeszcze do sprzedaży szczepionki zapobiegającej zakażeniu. Trwają badania kliniczne III fazy nad szczepionką opartą na najlepiej poznanych składnikach wirulencji *C. difficile*, czyli toksynach. Fragmenty toksyn A i B podane jako antygeny wzbudzają odpowiedź systemową, która neutralizuje działanie toksyn, jednak indukcja odpowiedzi miejscowej w jelicie jest bardzo słaba. Udowodniono działanie ochronne szczepionek opartych na toksynach A i B. Na zdrowych ochotnikach wykazano, że szczepionki są bezpieczne i immunogenne oraz że zapobiegają nawrotom choroby u osób cierpiących na nawracające CDI. Istnieją jednak doniesienia o dużej zmienności toksyn wytwarzanych przez bakterię, zwłaszcza w rejonie najsilniej wzbudzającego odpowiedź odpornościową C-końca tych białek. Nie wiadomo, czy wytworzenie aktywnych przeciwciał skierowanych na toksyny wyeliminuje nosicielstwo oraz przenoszenie między pacjentami zakażenia przez spory. Jednym z badanych rozwiązań jest wykorzystanie immunogennych właściwości białek wchodzących w skład warstwy powierzchniowej patogenu, jako składników szczepionki. Jedną z metod prewencji zakażeń *C. difficile* może być indukcja swoistych przeciwciał skierowanych przeciwko cząsteczkom zaangażowanym w proces adhezji, ponieważ zablokowanie miejsc wiążących na powierzchni bakterii uniemożliwiłoby przyleganie patogenu do komórek nabłonkowych człowieka i tym samym nie dochodziłoby do rozwinięcia się stanu zapalnego. Właściwości immunogenne składników powierzchni *C. difficile* stwarzają możliwość wykorzystania ich w szczepionkach. Za wykorzystaniem białek w szczepionkach przemawia również to, że część z nich ma regiony konserwatywne.

Celem naszego projektu jest przede wszystkim znalezienie miejsc wiązania przeciwciał do białek na powierzchni komórki bakterii *Clostridium difficile*. Zlokalizowanie takich miejsc pozwoli w przyszłości na zaprojektowanie efektywnej szczepionki. Określony epitop zostanie następnie połączony z białkiem nośnikowym w celu wzmocnienia jego immunoreaktywności. Tak przygotowany koniugat zostanie przetestowany jako protoszczepionka podana w nowoczesnym nanoadiuwancie w badaniach *in vivo* i *in vitro*. Nanoadiuwant ma właściwości ochronne względem antygeny oraz wzmacnia odpowiedź odpornościową u szczepionych myszy. **Efekt projektu będzie dobrze opisana formuła w postaci immunogennego koniugatu oraz nanoadiuwantu gotowa do dalszego testowania, co w przyszłości może skutkować powstaniem pierwszej polskiej szczepionki przeciwko *Clostridium difficile*.**

Zadania przewidziane w projekcie obejmują:

- Poszukiwanie bakteryjnego białka silnie wiązane przez przeciwciała ludzkie za pomocą jednej z technik mapowania epitopów.
- Przygotowanie koniugatu syntetycznego peptydu z białkiem nośnikowym.
- Połączenie koniugatu i nanoadiuwantu.
- Testowanie właściwości biologicznych formuły *in vitro* (z użyciem linii komórkowych).
- Testowanie właściwości ochronnych formuły *in vivo* (z użyciem modelu zwierzęcego).