

## **Ewaluacja potencjału fotoinaktywacji w eradykacji nosicielstwa *Streptococcus agalactiae* w układzie moczowo-płciowym: badania *in vitro* i *in vivo***

**Uniwersytet Gdański; Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego**

Wprowadzenie antybiotyków do rutynowego leczenia doprowadziło do rewolucyjnych zmian w zakresie zakażeń bakteryjnych. Obecnie, pojawiająca się i narastająca wielolekooporność mikroorganizmów stanowi ogromne zagrożenie dla zdrowia i życia pacjentów zarówno w Europie jak i na całym świecie. Prace dotyczące rozwoju i powstania alternatywnych opcji terapeutycznych prowadzących do zmniejszenia stosowania antybiotyków oraz zmniejszenia tempa narastania lekooporności powinny stanowić podstawowy kierunek badań naukowych. Profilaktyka zakażeń okołoporodowych wywołanych paciorkowcami grupy B (*ang. group B Streptococcus*, GBS) opiera się przede wszystkim na dożylnym stosowaniu antybiotyków beta-laktamowych, które nie pozostają bez wpływu na florę fizjologiczną człowieka i indukują powstawanie lekoopornych szczepów bakterii. Antybiotyki beta-laktamowe tj. penicyliny czy cefalosporyny, stanowią istotną grupę leków przeciwdrobnoustrojowych i poszukiwanie alternatywnych podejść terapeutycznych prowadzących do zmniejszenia ich zużycia oraz spowolnienia tempa narastania oporności wśród mikroorganizmów powinny stanowić priorytetowy kierunek badań.

### **Z tego względu niniejszy projekt skupia się wokół następujących celów:**

- Ocena bakteriobójczej aktywności inaktywacji fotodynamicznej z użyciem związków fotouczulających oraz fotoinaktywacji z użyciem światła 405 nm wobec różnych serotypów *Streptococcus agalactiae*.
- Określenie prawdopodobieństwa nabycia mechanizmów oporności na inaktywację fotodynamiczną wskutek wielokrotnego traktowania *S. agalactiae* fotoinaktywacją.
- Ocena foto- i cytotoksyczności badanych związków fotouczulających wobec ludzkich fibroblastów.
- Ocena mutagenności fotoinaktywacji w modelu prokariotycznym (test Ames, test rec) oraz eukariotycznym (test kometowy).
- Ocena zdolności fotoinaktywacji w dekolonizacji *S. agalactiae* z pochwy myszy.
- Ocena wpływu fotoinaktywacji na hodowlaną część flory fizjologicznej pochwy myszy.

W stosunku do jednego z głównych patogenów człowieka odpowiedzialnych za okołoporodowe zakażenia noworodków i niemowląt tj. *Streptococcus agalactiae* będziemy analizować inaktywację fotodynamiczną (*ang. Photodynamic Inactivation*, PDI) z użyciem związków fotouczulających (*ang. Photosensitizers*, PS) należących do różnych grup chemicznych oraz fotoinaktywację wykorzystującą światło niebieskie o fali długości 405 nm bez użycia egzogennych fotouczulaczy. Przeciwbakteryjna inaktywacja fotodynamiczna (PDI) prowadzi do uszkodzenia komórek drobnoustrojów poprzez wytwarzanie reaktywnych form tlenu (*ang. reactive oxygen species*, ROS) indukowanych interakcjami między światłem widzialnym o odpowiedniej długości fali a światłoczułym związkiem chemicznym zwanym fotouczulaczem. Tworzone reaktywne formy tlenu oraz tlen singletowy mogą wywierać efekt cytotoksyczny wobec różnych biomolekuł tj. białka, lipidy, błony komórkowe czy materiał genetyczny. Innym nowatorskim podejściem jest wykorzystanie światła niebieskiego (405 nm) bez użycia egzogennych związków fotouczulających. Dokładny mechanizm przeciwbakteryjnego efektu światła niebieskiego nie jest w pełni poznany. Ogólnie przyjęte hipotezy mówią, że światło niebieskie prowadzi do wzbudzenia wewnątrzkomórkowych związków fotouczulających tj. porfiryny, które zachowują się jak fotouczulacze w klasycznej metodzie PDI. Wstępne badania naszego zespołu wykazują, że zaproponowane podejście może prowadzić do skutecznej eradykacji *S. agalactiae*. Proponowane metody eradykacji zostaną również zbadane wobec bakterii reprezentującej naturalną florę fizjologiczną pochwy tj. *Lactobacillus acidophilus* w celu wyznaczenia okna terapeutycznego, dla którego efektywna eradykacja *S. agalactiae* będzie możliwa bez znacznej redukcji w żywotności bakterii należących do flory fizjologicznej. Ponadto, w celu weryfikacji wyników uzyskanych w badaniach *in vitro*, w ramach niniejszego projektu przeprowadzona zostanie ocena potencjału fotoinaktywacji w eradykacji *S. agalactiae* w warunkach *in vivo* wykorzystując myszy model kolonizacji pochwy. Przeprowadzone *in vivo* badania wykażą również wpływ fotoinaktywacji na hodowlaną część flory fizjologicznej pochwy. Dodatkowo, badania histopatologiczne pozwolą ocenić wpływ inaktywacji fotodynamicznej na wzór komórkowy i strukturę tkanek wyściełających pochwę. Wierzmy, że takie podejście pozwoli nam ocenić potencjał fotoinaktywacji w eradykacji *S. agalactiae* oraz potwierdzić bezpieczeństwo proponowanego podejścia w stosunku do komórek i tkanek gospodarza.