

Cel projektu

Opracowanie nowej procedury analitycznej mającej na celu ocenę wartości terapeutycznej i przydatności leków przeciwbakteryjnych i ich metabolitów jako wyznaczników antybiotykoodporności w oparciu o analizę profili białkowych i metabolicznych.

Badania podstawowe realizowane w projekcie

Pierwszym etapem prowadzonych badań będzie opracowanie prostych, stosunkowo szybkich i tanich, a także ekologicznych metod izolacji analitów z próbek klinicznych od pacjentów m.in. z owrzodzeniami w zespole stopy cukrzycowej oraz ranami pooperacyjnymi. Istotny będzie również dobór warunków rozdzielania i optymalnych parametrów pracy spektrometru mas umożliwiających jednoczesne oznaczenie wybranych antybiotyków i ich metabolitów w płynach fizjologicznych za pomocą techniki LC-MS/MS. Dalsze badania ukierunkowane będą na opracowanie metody oznaczania środków przeciwbakteryjnych w płynach ustrojowych w oparciu o technikę MEKC-DAD poprzez optymalizację parametrów wpływających na separację analitów, a także optymalizację procedury ekstrakcji substancji czynnych w zależności od rodzaju matrycy biologicznej. W związku z faktem, iż ślina nie była do tej pory często wykorzystywana jako matryca do wykrywania badanych substancji czynnych, jednym z zadań będzie wyznaczenie zależności stężeń wybranych antybiotyków oznaczonych w ślinie, a ich poziomami wyznaczonymi w moczu oraz osoczu (korelacja).

Kolejnym etapem badań będzie optymalizacja metody przygotowania próbek pod kątem wpływu różnych matryc biologicznych (krew, ślina, mocz) na rodzaj zidentyfikowanych szczepów bakterii za pomocą techniki laserowej jonizacji/desorpcji wspomaganą matrycą (MALDI TOF-MS/MS).

Ze względu na istotną rolę biofilmów bakteryjnych w zakażeniach bakteryjnych, w ramach projektu zbadany zostanie wpływ wybranych antybiotyków oraz ich metabolitów na nabywanie oporności przez wybrane szczepy bakterii oraz ocena ich zdolności do tworzenia biofilmu w warunkach *in vitro*. Oznaczenie nienaruszonych komórek bakteryjnych oraz komórek po lizie przeprowadzone zostanie za pomocą elektroforezy kapilarnej sprzężonej ze spektrometrią mas (badanie profili molekularnych).

Dalsze badania, będą koncentrowały się na przemianach metabolicznych wybranych antybiotyków w obecności enzymów mikrosomalnych komórek ludzkiej wątroby, a także przeprowadzenia elektrochemicznej symulacji metabolizmu (reakcje I i II fazy).

Powody podjęcia tematyki badawczej

W każdej strategii leczenia antybiotykami uznaje się, że antybiotyki są kamieniem milowym w leczeniu zakażeń. Niemniej jednak, niewłaściwe stosowanie leków przeciwbakteryjnych, zarówno w przypadku ludzi jak i zwierząt może wiązać się z nawrotem zakażenia, bezpośrednią toksycznością, niewydolnością narządów, a przede wszystkim z pojawieniem się infekcji o podłożu antybiotykoodpornym. W dobie rosnącej oporności na antybiotyki diagnostyka, która może być prostą, szybką i taną identyfikacją infekcji bakteryjnej lub określającą odpowiedź na antybiotyki, jest niewątpliwie niezbędna do optymalizacji indywidualnej terapii pacjenta i zmniejszenia ryzyka wystąpienia oporności na antybiotyki. Z pewnością jeszcze ważniejsza jest rosnąca świadomość, że optymalizacja terapii nie tylko opiera się na sile terapeutycznej, ale także wiąże się z minimalizacją ryzyka wystąpienia oporności podczas terapii, zarówno w przypadku bakterii chorobotwórczych jak i naturalnego mikrobiomu. Należy zaznaczyć, iż stosowane obecnie techniki diagnostyczne są zbyt czasochłonne, a także niewystarczająco specyficzne.

Spodziewane efekty

Wiedza uzyskana w trakcie realizacji badań może być wykorzystana do opracowywania efektywnych strategii kontrolowania zjawiska lekooporności. Ponadto, opisane powyżej tematyki badawcze mogą posłużyć również jako narzędzie analityczne dla wczesnej diagnostyki medycznej, a także do monitorowania skutecznej antybiotykoterapii.