

Streszczenie

Globalny problem rosnącej oporności patogenów bakteryjnych na środki przeciwdrobnoustrojowe i wiążące się z nim niepowodzenia w leczeniu infekcji, skłaniają do poszukiwania nowych, alternatywnych metod terapii. Badania dotyczące wpływu pola magnetycznego (PM) na parametry funkcjonalne bakterii są prowadzone przez wiele zespołów badawczych na całym świecie. Jednym ze stosunkowo nowych kierunków badań jest analiza wpływu PM na efektywność działania środków przeciwdrobnoustrojowych wobec bakterii. Jednakże, często badania takie prowadzone są w sposób, który nie obejmuje w analizie części czynników mogących wpływać na obserwowane efekty i tym samym, uzyskane wyniki nie dostarczają satysfakcjonującego wyjaśnienia obserwowanych zjawisk. Dlatego też, wskazane wydaje się prowadzenie dalszych badań w tym zakresie, jak również systematyzacja ich prowadzenia.

Podstawowym celem niniejszej rozprawy doktorskiej była analiza wpływu wirującego pola magnetycznego (WPM) na efektywność działania antybiotyków wobec bakterii z gatunku *Staphylococcus aureus*, w tym szczepów metycylinoopornych (ang. *methicillin-resistant S. aureus*, MRSA) oraz metycylinowrażliwych (ang. *methicillin-susceptible S. aureus*, MSSA). Ponadto, rozprawa doktorska była próbą usystematyzowania sposobu prowadzenia analiz dotyczących wpływu PM na różne parametry funkcjonalne bakterii.

Wszystkie eksperymenty przeprowadzone w ramach opisanego osiągnięcia naukowego wykonano z wykorzystaniem stanowisk badawczych wyposażonych w bioreaktory wspomagane WPM, zbudowane ze stojanu elektrycznego silnika trójfazowego oraz komory procesowej, w której w trakcie ekspozycji umieszczano hodowle bakterii. W badaniach wykorzystano zarówno kliniczne, jak i referencyjne szczepy bakterii należące do 8 gatunków (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter cloacae*, *Moraxella catarrhalis* i *Bacillus cereus*), przy czym eksperymenty związane z efektywnością działania antybiotyków przeprowadzono wyłącznie z użyciem szczepów *S. aureus* (w tym szczepów MRSA i MSSA). W analizach uwzględniono różne parametry związane z ekspozycją bakterii na WPM (np. częstotliwość WPM w zakresie od 5 do 50 Hz i czas ekspozycji w zakresie od 1 do 18 godzin) oraz antybiotyki z różnych grup, charakteryzujące się odmiennym mechanizmem działania, a także różnymi ładunkami elektrycznymi. Przeprowadzone analizy związane były z wpływem WPM na kinetykę wzrostu i komórkową aktywność metaboliczną bakterii oraz efektywność działania antybiotyków.

Uzyskane wyniki wykazały, że oddziaływanie WPM na takie parametry jak kinetyka wzrostu oraz komórkowa aktywność metaboliczna, nie zależą wyłącznie od parametrów opisywanych dotąd w literaturze (np. od gatunku bakterii, kształtu komórki, budowy ściany komórkowej, czy też od rodzaju i parametrów PM i czasu ekspozycji), ale również, w istotnym stopniu od zróżnicowania szczepów bakteryjnych w obrębie gatunku (w tym nawet szczepów należących do jednego typu klonalnego). Ustalono również, że efektywność działania antybiotyków z różnych grup, w tym aminoglikozydów, β -laktamów, fluorochinolonów, glikopeptydów, linkozamidów makrolidów i tetracyklin wobec *S. aureus* wzrasta pod wpływem WPM. Szczególnie znaczące zmiany obserwowane były w odniesieniu do antybiotyków, których mechanizm działania związany jest hamowaniem syntezy ściany

bakteryjnej (β -laktamy i glikopeptydy). Wykazano, że zmiany w efektywności działania β -laktamów były spowodowane osłabieniem komórek bakteryjnych pod względem strukturalnym. Wśród obserwowanych zmian stwierdzono deformacje kształtu i zmiany w wielkości komórek, a także zapadanie się ścian komórkowych i utratę turgoru komórkowego.

W ramach prowadzonych analiz dowiedziono również, że na zmiany w efektywności działania antybiotyków wobec bakterii eksponowanych na WPM wpływ mają takie czynniki jak: częstotliwość WPM, czas ekspozycji oraz stężenie antybiotyku. Wykazano ponadto, że zmiany w efektywności działania antybiotyków pod wpływem WPM są, podobnie jak kinetyka wzrostu oraz komórkowa aktywność metaboliczna, również ściśle związane ze zróżnicowaniem szczepów w obrębie gatunku. Wykazano również, że zmiany w efektywności działania antybiotyków β -laktamowych wobec bakterii manifestują się jedynie w obecności WPM i nie pozostają one utrwalone w komórkach po zaprzestaniu ekspozycji. Udowodniono także, że choć WPM ma wpływ na uwalnianie antybiotyków z nośnika oraz ich dyfuzję w agarze, nie jest to czynnik istotnie determinujący efektywność działania antybiotyków wobec bakterii.

Wyniki uzyskane w trakcie realizacji niniejszej rozprawy doktorskiej istotnie pogłębiły wiedzę dotyczącą zmian w efektywności działania antybiotyków pod wpływem WPM wobec bakterii z gatunku *S. aureus*. Ponadto, po raz pierwszy w tak szczegółowy i kompleksowy sposób przeanalizowano wpływ WPM na komórki bakteryjne. Istotnym osiągnięciem, wynikającym z przeprowadzonych analiz, jest również stworzenie spójnej bazy metodologicznej, która może przyczynić się do systematyzacji badań związanych z wpływem PM na różne parametry funkcjonalne oraz efektywność działania środków przeciwdrobnoustrojowych wobec bakterii.

Marta Nowaczyńska