

Streszczenie

Streptococcus agalactiae – najczęstszy przedstawiciel paciorkowców grupy B (eng. Group B *Streptococcus* - GBS), mimo że jest uznawany za bakterię komensalną u dorosłych, jest głównym źródłem inwazyjnych infekcji u noworodków, a ostatnio także u kobiet w ciąży, osób starszych oraz osób z obniżoną odpornością. Infekcje wywołane przez GBS mogą wywoływać szerokie spektrum chorób takich jak: bakteriemia, posocznica, zapalenie płuc, infekcje dróg moczowych, ostre i przewlekłe zapalenie szpiku i innych. Leki pierwszego rzutu stosowane przeciwko GBS to antybiotyki β -laktamowe. Wraz z rosnącym spadkiem wrażliwości drobnoustrojów na penicylinę i opornością na inne antybiotyki istnieje ogromne zapotrzebowanie na opracowywanie alternatywnych terapii. Przeciwdrobnoustrojowa inaktywacja fotodynamiczna (eng. antimicrobial Photodynamic Inactivation - aPDI) jest jedną z proponowanych terapii, która zapewnia alternatywne rozwiązanie problemu antybiotykooporności bakterii. Wymaga jednoczesnej obecności fotosensybilizatora (eng. photosensitizer - PS), światła o określonej długości fali i tlenu. W efekcie powstają reaktywne formy tlenu (RFT), które wywołują uszkodzenia błon komórkowych, białek i kwasów nukleinowych, końcowo doprowadzając do śmierci komórek bakteryjnych.

Celem pracy była ocena bakteriobójczego działania aPDI wobec różnych serotypów *S. agalactiae* i przedstawicieli fizjologicznej flory pochwy człowieka, ocena fototoksyczności aPDI wobec ludzkich keratynocytów, stworzenie rozszerzonego modelu logistycznego aPDI dla różnych intensywności naświetlania, ocena możliwości rozwoju oporności/tolerancji na aPDI, określenie potencjału mutagennego aPDI i wreszcie ocena potencjału aPDI w dekolonizacji *S. agalactiae* z pochwy myszy.

aPDI z wykorzystaniem różu bengalskiego (RB) została wybrana jako najskuteczniejszy wariant aPDI w zmniejszaniu żywotności *S. agalactiae* *in vitro*. Wywoływała mniejszy spadek żywotności przedstawicieli fizjologicznej flory pochwy człowieka niż *S. agalactiae*. Badania modelowania komputerowego zaowocowały stworzeniem rozszerzonego modelu logistycznego aPDI, który efektywnie opisuje dynamikę śmiertelności *S. agalactiae* w całym badanym zakresie mocy naświetlania. Udowodniono, że aPDI z wykorzystaniem RB, jest skuteczna również wobec biofilmu *S. agalactiae* hodowanego w modelu stacjonarnym, jak i w warunkach ciągłego przepływu, a także wobec biofilmu wielogatunkowego. Zastosowane warunki aPDI nie wykazywały istotnego działania foto- lub cytotoksycznego wobec ludzkich keratynocytów i nie wykazywały znaczącego działania mutagennego w komórkach prokariotycznych ani eukariotycznych. Zaobserwowano jednak, że wraz z zastosowaniem kolejnych cykli subletalnych dawek aPDI następuje u *S. agalactiae* rozwój tolerancji na aPDI. Bakterie tolerancyjne mają znacząco zmieniony fenotyp i poziom ekspresji genów związanych ze stresem oksydacyjnym, ale nadal można je unieszkodliwić przy użyciu wyższego stężenia fotosensybilizatora i wyższej dawki światła. W mysim modelu kolonizacji *S. agalactiae* zaobserwowano spadek przeżywalności *S. agalactiae*. Ponadto zbadano zmiany przeżywalności różnych grup

bakterii. Badania histopatologiczne nie wykazały cytotoksycznego wpływu aPDI na tkanki pochwy. Podsumowując, aPDI z wykorzystaniem RB jest skuteczna w zmniejszaniu żywotności *S. agalactiae* zarówno *in vitro* jak i *in vivo* oraz jest bezpieczna w użyciu. Jednak jej zastosowanie w praktyce klinicznej wymaga dalszych badań.