

Kontekst problemu. Każdego roku oporność na antybiotyki wśród bakterii będących źródłem zakażeń skutkuje zgonami około miliona ludzi. Mimo zatrważających statystyk i dużego ryzyka pogłębiania się tego problemu mentalnie ludzkość wciąż pozostaje w okresie złotej ery antybiotyków. Praktycznie od razu po wprowadzeniu w latach 40. XX wieku antybiotyki znacząco zwiększyły jakość i długość życia. Jednak obecnie rozprzestrzenianie się oporności na kolejne grupy antybiotyków wśród bakterii chorobotwórczych staje się ogromnym wyzwaniem naszej cywilizacji. Za przykład niech posłuży superbakteria New Delhi Metallobetalactamase (NDM), wyizolowana w roku 2008 w Indiach. Pierwsze przypadki NDM w Polsce stwierdzono w roku 2014, a obecnie, zaledwie cztery lata później, spodziewamy się przeszło 3 tysięcy zakażeń. Niektórzy specjaliści ostrzegają wręcz przed wybuchem epidemii.

Poziom bezpieczeństwa epidemiologicznego, który zawdzięczamy częściowo złotej erze antybiotyków, sprawił, że odpowiedź bakterii na antybiotyki charakteryzujemy w wielce uproszczony sposób – jeżeli nie ma antybiotyków lub ich stężenie jest zbyt niskie, bakterie się namnażają, ale powyżej pewnego progu koncentracji antybiotyku bakterie przestają się namnażać i/lub umierają. Do chwili obecnej podatność antybiotyków na bakterie najczęściej określano jedną wartością – minimalnego stężenia hamującego ich wzrost (z ang. minimal inhibitory concentration, MIC). MIC uważana jest za wartość wskazującą na możliwość wzrostu bakterii lub brak możliwości dalszego rozwoju bakterii. Tymczasem rzeczywistość jest zdecydowanie bardziej złożona. Nawet w pojedynczej kolonii nie wszystkie bakterie są takie same. Komórki bakteryjne wykazują wariacje genetyczne, a nawet w populacji jednorodnej genetycznie komórki mogą „zachowywać się” zupełnie odmiennie, czyli mogą mieć odmienny fenotyp, szczególnie w odpowiedzi na stresogeny antybiotyk. Niektóre komórki „tolerują” wyższe stężenie antybiotyków niż inne. Jeżeli podana dawka antybiotyku zmieści się w zakresie tolerancji danej populacji, antybiotyki nie tylko nie pomogą, ale wręcz zaostrzą sytuację, gdyż przyczynią się do wzrostu komórek bardziej opornych na antybiotykoterapię. Drugi problem wiąże się z tym, że w wypadku niektórych antybiotyków bakterie wykazują zwiększoną oporność, gdy żyją w gęstych populacjach. Takie miejsca stają ośrodkami oporu i szybkiego namnażania się bakterii. Trzeci problem to pomiary MIC, które niestety są podatne na błędy. W typowym środowisku laboratoryjnym trudno jest przygotować początkową gęstość zawiesiny bakterii z odpowiednio wysoką dokładnością. W wypadku niektórych antybiotyków brak precyzyjnego ustalenia gęstości bakterii prowadzi do błędnych pomiarów wartości MIC. Taki błąd, zwłaszcza w wypadku trudnych zakażeń, może pociągnąć za sobą bardzo poważne konsekwencje – wykluczyć użycie antybiotyków, które mogłyby się okazać skuteczne, i skłonić do zastosowania takich, które nie odniosą skutku terapeutycznego.

Celem naszego projektu jest opracowanie nowych narzędzi analitycznych, które pozwolą scharakteryzować złożoność możliwości odpowiedzi bakterii na różne antybiotyki wykorzystywane klinicznie. Posłużymy się w tym celu mikrofluidyką kropelkową – grupą technik umożliwiających wytwarzanie tysięcy czy wręcz milionów maleńkich identycznych kropli. Krople te mogą być tworzone z zawiesiny bakterii, dzięki czemu można w nich zamykać pojedyncze bakterie lub ich grupy. Poprzez dodanie różnych koncentracji antybiotyków utworzymy zestawy kropli (zwane „bibliotekami”) – każda „biblioteka” będzie zawierać krople o ściśle określonym stężeniu antybiotyku i liczbie komórek bakteryjnych.

Proponowany zakres badań. Aby opracować zaproponowaną platformę, musimy stworzyć systemy mikroprzepływowe, które pozwolą manipulować wieloma „bibliotekami” składającymi się z tysięcy nanolitrowych kropli, rozwinąć technikę detekcji wzrostu bakterii w maleńkich kroplach bez dodatku jakichkolwiek barwników oraz bez genetycznych modyfikacji bakterii, a także zadbać o to, żeby antybiotyki zamknięte w kroplach w nich pozostały.

Uzasadnienie wyboru tematyki. Antybiotykooporne zakażenia stanowią jedno z najpoważniejszych zagrożeń dla ludzkiego zdrowia. O ile możemy mieć nadzieję na powstanie nowych antybiotyków, to nawet jeżeli zostaną one dopuszczone do użytku, trwałe i skuteczne rozwiązanie problemu antybiotkoopornych zakażeń będzie zależało od lepszego zrozumienia odpowiedzi pojedynczych komórek oraz populacji bakterii na antybiotyki. Pozwoli to stosować skuteczne terapie i unikać powstawania lekooporności. W naukach przyrodniczych zrozumienie może być zbudowane tylko w oparciu o wiarygodne metody pomiarowe. Wierzimy, że metody analityczne, które zamierzamy opracować, są niezwykle potrzebne, i to stanowi naszą motywację do podjęcia proponowanych badań.