

Sposób na szybką identyfikację bakterii w infekcjach

27 stycznia 2017

Wkrótce praktycznie każdy szpital będzie w stanie w ciągu zaledwie minut zidentyfikować gatunki bakterii odpowiedzialne za infekcję rozwijającą się u pacjenta – mają nadzieję badacze z Warszawy, którzy opracowali nową, łatwą do zaadaptowania i tanią procedurę analityczną.

Gdy do szpitala trafia pacjent z zaawansowaną infekcją bakteryjną, np. chory na sepsę, czas nabiera kluczowego znaczenia. Im szybciej uda się ustalić gatunek intruza pustoszącego organizm, tym większa szansa na skuteczną terapię. Tymczasem powszechnie stosowane metody analityczne wciąż wymagają namnażania bakterii (co nierzadko trwa nawet kilka dni) lub specjalistycznego sprzętu, dostępnego w nielicznych laboratoriach.

Naukowcy z Instytutu Chemii Fizycznej PAN w Warszawie przekonują, że identyfikację bakterii można przeprowadzić w niemal każdej przyszpitalnej pracowni analitycznej, a czas oczekiwania na wynik skrócić do minut. W procedurze badacze z Instytutu Chemii Fizycznej PAN w Warszawie główną rolę odgrywają nowatorskie biokoniugaty: świecące, magnetyczne mikrocząstki pokryte odpowiednio dobranymi bakteriofagami. Badania ukazały się na łamach czasopisma naukowego „Bioconjugate Chemistry” (<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.bioconjchem.6b00596>).

Badacze z pełną świadomością zrezygnowali z patentowania swoich rozwiązań, aby każdy szpital mógł skorzystać z rozwiązania jak najszybciej i jak najtaniej. O rozwiązaniu poinformowali przedstawiciele IChF PAN w przesłanym PAP

komunikacie.

SZYBCIEJ, LEPIEJ, TANIEJ

Przed przystąpieniem do prac nad nową techniką analityczną badacze z IChF PAN założyli, że powinna ona pozwalać na identyfikację bakterii znacząco szybciej od dotychczasowych metod i być łatwa do wprowadzenia do dużej liczby przyszpitalnych laboratoriów, bez uszczerbku dla dokładności pomiarów. Dodatkowym wymogiem było zapewnienie niskiego kosztu analiz. „Szybciej, lepiej, taniej – nam udało się zrealizować wszystkie te cele” – mówi dr Jan Paczesny z IChF PAN, który kierował projektem badawczym finansowanym z grantów Narodowego Centrum Nauki.

Urządzeniem detekcyjnym w nowej technice identyfikowania bakterii jest cytometr przepływowy. To dość prosta i względnie tania aparatura, znajdująca się na wyposażeniu wielu szpitali. Stosuje się ją powszechnie w badaniach krwi.

WRÓG BAKTERII – TO NASZ PRZYJACIEL

Podstawowym problemem było opracowanie takiego sposobu oznaczania bakterii, aby można je było łatwo wyłapywać z badanej próbki i z dużą pewnością identyfikować za pomocą cytometru. W tym celu naukowcy z IChF PAN postanowili skonstruować specjalne biokoniugaty, czyli kompleksy tworzone przez połączenie nieożywionej mikrocząstki z cząstką biologiczną. Elementem biologicznym był bakteriofag, czyli wirus infekujący określony gatunek bakterii (w eksperymentach w IChF PAN użyto bakteriofagów T4, atakujących bakterie *Escherichia coli*).

Bakteriofagi należało połączyć z mikrocząstkami zdolnymi do emisji światła łatwego do zarejestrowania w cytometrze oraz wykazującymi właściwości magnetyczne. Te ostatnie były niezbędne, ponieważ pozwalały za pomocą zwykłego magnesu odseparować biokoniugaty od pozostałych drobin w badanej próbce.

„Zaczęliśmy od poszukiwań niedrogich, komercyjnie dostępnych mikrocząstek spełniających nasze wymagania. Okazało się, że odpowiednie cząstki są już na rynku – i to dokładnie takie, na jakich nam zależało! Ich powierzchnia jest bowiem pokryta akurat takimi chemicznymi grupami funkcyjnymi, jakie były nam potrzebne do osadzania na nich bakteriofagów praktycznie dowolnego typu” – wyjaśnia doktorantka Marta Janczuk-Richter z grupy prof. Joanny Niedziółki-Jönsson.

TRZY W JEDNYM

Zakupione mikrokulki badacze połączyli z bakteriofagami. Obrazy otrzymane za pomocą mikroskopii konfokalnej potwierdziły, że w nowych biokoniugatach do jednej mikrocząstki zwykle przylegały dwa lub trzy bakteriofagi. W ten sposób otrzymano pierwsze na świecie biokoniugaty o potrójnej funkcji: przyłączające się wyłącznie do jednego gatunku bakterii, reagujące na pole magnetyczne i zdolne do świecenia (fluorescencji).

Procedura identyfikowania bakterii za pomocą tak skonstruowanych biokoniugatów jest prosta. Próbkę – może nią być płyn fizjologiczny pobrany od pacjenta, ale także produkt spożywczy, np. sok marchwiowy – rozcieńcza się, po czym do roztworu dodaje się niewielką ilość wcześniej przygotowanych biokoniugatów. Teraz należy odczekać krótką chwilę, żeby biokoniugaty zdążyły przyłączyć się do bakterii. Do próbki z płynem przykładana się następnie magnes, który przyciąga wszystkie biokoniugaty, w tym te z dołączonymi bakteriami. Po odlaniu pozostałej części próbki i ponownym rozcieńczeniu odseparowanego osadu, roztwór jest przepuszczany przez cytometr.

OTWARTA DROGA DO DALSZYCH PRAC

„Pomiar w cytometrze zwykle trwa około minuty. Wynik to wykres, na którym widzimy, jak oddziałują ze światłem wszystkie biokoniugaty. A ponieważ wiemy, jaki sygnał

powinniśmy dostać od czystych biokoniugatów, a więc tych bez bakterii, możemy łatwo ustalić, czy w badanej próbce znajdują się poszukiwane przez nas bakterie, a jeśli tak, to w jakiej liczbie” – mówi doktorant Łukasz Richter.

Biokoniugaty z bakteriofagami jednego typu wykrywają wyłącznie jeden gatunek bakterii. Jednak z uwagi na łatwość przygotowania biokoniugatów, zainteresowane pracownie przyszpitalne mogłyby wcześniej, we własnym zakresie i bez większych problemów, wyprodukować kilkanaście lub kilkadziesiąt rodzajów potencjalnie przydatnych biokoniugatów, każdy z bakteriofagami infekującymi inny gatunek bakterii.

W przypadku sepsy, której większość przypadków wywołuje zaledwie kilkanaście gatunków bakterii, przeprowadzenie identyfikacji wymagałoby wówczas równoległego przeprowadzenia co najwyżej kilkunastu testów. Sprawnemu technikowi laboratoryjnemu cała procedura nie powinna zająć więcej niż godzinę.

Źródło: NaukawPolsce.PAP.pl