

Tytuł rozprawy doktorskiej: Detekcja α -defensyn metodami wzmocnionej fluorescencji na powierzchni nanocząstek metalu szlachetnego w diagnostyce infekcji okołoprotezowych.

Autor: mgr Grzegorz Wołąkiewicz

Promotor: dr hab. Mariusz Szabelski, prof. UWM

Katedra Fizyki i Biofizyki, Wydział Nauki o Żywności

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Promotor pomocniczy: dr n. med. Marek Gojło

Oddział Kliniczny Chirurgii Urazowo-Ortopedycznej i Chirurgii Kręgosłupa Wojewódzki Szpital Specjalistyczny w Olsztynie

Streszczenie

Zakażenia okołoprotezowe (PJI) stanowią jedno z najpoważniejszych powikłań po alloplastyce dużych stawów. Mimo że odsetek przypadków septycznych, w porównaniu do ogólnej liczby tych zabiegów jest stosunkowo niski, to problem dotyczy coraz większej grupy osób starszych, cierpiących na dysfunkcje stawów, które utrudniają normalne funkcjonowanie. W konsekwencji rośnie liczba zabiegów endoprotezoplastyki i związanych z nimi powikłań. Wyniki badań laboratoryjnych, pomimo ustalonych standardów diagnostyki zakażeń okołoprotezowych są często niejednoznaczne. Z uwagi na trudności w izolacji patogenów, diagnoza opiera się na markerach stanów zapalnych. Jednym z najnowszych biomarkerów stosowanych w diagnostyce PJI jest alfa-defensyna, której obecność w płynie stawowym powiązано z naturalną odpowiedzią organizmu na infekcję. Ograniczaniem w powszechnym oznaczaniu alfa-defensyny jest dostęp do dwóch komercyjnych testów. W pracy zaproponowano nową metodę oznaczania alfa-defensyn w płynie stawowym, opartą na immunosensorze, umożliwiającym detekcję peptydów z wykorzystaniem specyficznych przeciwciał wychwytyjących i potwierdzających, wyznakowanych różnymi fluoroforami. W ramach badań dobrano znaczniki, które po związaniu z białkami scharakteryzowano spektroskopowo pod kątem wykorzystania zjawiska bezpromienistego transferu energii. Dzięki immobilizacji znakowanych przeciwciał na powierzchni sensora pokrytego nanowypami srebra stworzono efektywny biosensor, umożliwiający detekcję we wzmocnionej fluorescencji. Opracowany układ pomiarowy oparty na prostej konstrukcji umożliwia selektywne wzbudzenie i rejestrację emisji fluorescencji, potwierdzającej obecność antygeny. Badania wykazały możliwość detekcji alfa-defensyn w szerokim zakresie stężeń. Walidacja testu na próbkach płynu pobranego od pacjentów z podejrzeniem PJI wskazała równoważność opracowanego testu z medycznym testem immunochromatograficznym, a ocena kliniczna występowania infekcji w badanej grupie pacjentów, potwierdziła wysoką czułość zaproponowanego testu w predykcji PJI.

Słowa kluczowe: fluorescencja, biosensor, alfa-defensyny, zakażenia okołoprotezowe