



Dr hab. Barbara Bażanów, prof. uczelni
Zakład Mikrobiologii
Katedra Patologii
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Wrocław, 20.08.2023

Recenzja

**rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Magdaleny Pajązkowskiej
pt. " Wpływ peptydów przeciwdrobnoustrojowych i promieniowania
laserowego na drobnoustroje izolowane z przewlekłych zakażeń
jamy ustnej"**

*wykonana na prośbę Prof. dr hab. Marzenny Podhorskiej - Okołów, zastępcę
przewodniczącego Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego
we Wrocławiu, wyrażoną w piśmie z dnia 15 czerwca 2023*



Choroby jamy ustnej, takie jak próchnica, kandydoza czy szeroko pojęte schorzenia przyzębia, ściśle związane są z adhezją patogenów do otaczających tkanek. Co więcej, tworzony biofilm może także stanowić zagrożenie dla innych, odległych obszarów organizmu, z uwagi na stale uwalniające się komórki w postaci planktonicznej, które cechują się zdolnością przemieszczania wraz z płynami ustrojowymi.

Złożone procesy patologiczne towarzyszące kolonizacji mikroorganizmów, skłaniają do przeprowadzenia dogłębnych badań nad wzajemnym wpływem i interakcjami między patogenami wchodzącymi w skład biofilmu. Z kolei ich wysoka oporność na działanie terapeutyków, wynikająca z odmiennych właściwości poszczególnych rodzajów i gatunków, wymusza potrzebę poszukiwania nowych, alternatywnych sposobów walki z drobnoustrojami.

W świetle powyższych potrzeb, zadania badawcze jakie wytyczyła sobie w pracy doktorskiej mgr inż. Magdalena Pajączkowska, jawią się jako aktualne i w dużej mierze aplikacyjne.

Głównym celem Doktorantki była analiza skuteczności potencjalnych metod leczenia chorób jamy ustnej o podłożu bakteryjno-grzybiczym, przy użyciu peptydów przeciwdrobnoustrojowych, fotouczulaczy, lasera i terapii fotodynamicznej. Ponadto ocenie poddano zdolność tworzenia przez wybrane, izolowane od pacjentów mikroorganizmy biofilmów jednogatunkowych i mieszanych oraz wzajemne oddziaływanie tych patogenów.



Przedstawiona do recenzji rozprawa mgr inż. Magdaleny Pajączkowskiej liczy 205 stron. Praca ma typowy układ przyjęty w tego typu opracowaniach.

W obszernym wstępie, wzbogaconym w fotografie i ryciny, Autorka opisuje mikrobiom jamy ustnej, mechanizm tworzenia biofilmu oraz zachodzące w nim interakcje. W dalszej części wyjaśnia etiologię próchnicy zębów i kandydozy jamy ustnej oraz aktualne sposoby walki z patogenami będącymi ich przyczyną.

Dalsza część rozprawy, opisująca materiały i metody świadczy o przemyślanym przez Doktorantkę zaprojektowaniu badań. Szczepy, których użyła, pochodziły zarówno od pacjentów, jak i z kolekcji ATCC. Doświadczenia przeprowadzono dla 3 modeli biofilmów: jedno-, dwu- i trzygatunkowego, co zasługuje na uznanie, gdyż większość prac innych autorów, dotyczących tego obszaru badań, opiera się na biofilmach jedno - lub dwugatunkowych. Doktorantka wykonała szereg analiz mikrobiologicznych, takich jak: ilościowe oznaczanie całkowitej biomasy, analiza żywotności i metabolizmu komórek, określenie CFU, oznaczenia pH i produkcji egzopolisacharydu, test filamentacji czy ocena działania antagonistycznego patogenów, przy użyciu szerokiego wachlarza metod.

W kolejnym etapie badań Autorka oceniała wpływ różnych czynników na dojrzały biofilm, skupiając się na dwóch wybranych lipopeptydach oraz fototerapii przy użyciu dwóch typów lasera i różnych parametrów.

Ogromna ilość wyników wymagała przeprowadzenia analizy statystycznej. Dodatkowo pracę doktorską wzbogacono o użycie konfokalnej skaningowej mikroskopii laserowej.

W swoich badaniach mgr inż. Magdalena Pajączkowska wykazała, że najsilniejsze zdolności tworzenia biofilmu miały szczepy *S. mutans* i *Lactobacillus sp.*, podczas gdy grzyby z rodzaju *Candida* tworzyły biofilm w stopniu umiarkowanym. Ponadto dowiodła, że w



biofilmch mieszanych, *Lactobacillus* działa antagonistycznie w stosunku do gatunków partnerskich.

W doświadczeniach dotyczących metod zwalczania patogenów, Autorka potwierdziła skuteczność badanych lipopeptydów w niszczeniu struktur biofilmu zarówno jedno- jak i wielogatunkowego. Z kolei fototerapia istotnie wpływała na eradykację drobnoustrojów, a za jej zastosowaniem, według Doktorantki, przemawia znikoma szansa na wykształcenie się „fotooporności” bakterii i krótki czas potrzebny na dezynfekcję w porównaniu do długiej antybiotykoterapii.

W rozdziale Dyskusja mgr inż. Magdalena Pajączkowska omówiła pozyskane wyniki, zestawiając je z badaniami innych autorów. Analiza danych własnych na tle danych literaturowych przeprowadzona została rzeczowo i świadczy o umiejętności interpretacji rezultatów. Piśmiennictwo, na które powołuje się Doktorantka jest dobrze dobrane tematycznie i obejmuje pozycje z ostatnich lat i wysoko punktowanych czasopism z listy JCR.

Za szczególną wartość pracy, uważam nowatorskie podejście Autorki do alternatywnych do terapii tradycyjnej, metod walki z próchnicą, kandydozą i chorobami przyzębia. Fototerapia może mieć zastosowanie w sytuacjach, gdy chory nie jest w stanie samodzielnie zadbać o higienę jamy ustnej (np. w stanach powypadkowych, związanych z ograniczoną ruchomością rąk lub głowy, przy niepełnosprawności umysłowej, etc.). Z kolei peptydy są dobrą opcją, gdy zawodzi powszechnie stosowana antybiotykoterapia.

Należy podkreślić, że w swojej pracy mgr inż. Magdalena Pajączkowska wykonała ogromną ilość analiz i oznaczeń, które dały podstawę do wysnucia niebudzących wątpliwości wniosków.



Praca przygotowana jest rzetelnie, a na uwagę zasługują staranne rysunki własne. Mimo tego, na etapie przygotowania manuskryptu, Doktorantka nie uniknęła błędów językowych i interpunkcyjnych oraz potocznych sformułowań. Niefortunnym, w stosunku do bakterii, wydaje się na przykład określenie „gęstość zaludnienia”.

Ponadto, niektóre akapity są niejasne, np. w rozdziale Wstęp (str. 19) Autorka opisuje funkcje ochronne płytki nazębnej, pod warunkiem prawidłowego przepływu śliny i odpowiedniej higieny jamy ustnej. Jednakże w kolejnych zdaniach pojawia się informacja, że zaburzenie tych czynników prowadzi do rozrostu płytki, co zaburza normalny przepływ śliny. Opis ten budzi wątpliwości, czy nieprawidłowy przepływ śliny jest przyczyną, czy konsekwencją tworzenia biofilmu.

Z kolei, na str. 44, w jednym ze zdań, Doktorantka opisuje PACT jako potencjalną terapię, stwierdzając na końcu, że pod wpływem wytwarzanego ROS, leczone komórki mogą ulec zabiciu. Dla czytelnika nie jest zrozumiałe, czy chodzi o zabicie patogenów czy potencjalne ryzyko uszkodzenia komórek jamy ustnej pacjenta.

Podobnie niejasne jest zdanie zamieszczone w rozdziale Wyniki, na str.76: „*S. mutans* wzorcowy nieco zwiększał biomasę biofilmu 3 gatunkowego (..) w porównaniu do biofilmu 3 gatunkowego z *S. mutans* klinicznym (...) kiedy w składzie był *S. mutans* wzorcowy ATCC 25175”.

Na potrzeby publikacji, akapity te należałoby przereklamować.

W doktoracie pojawiają się też błędy merytoryczne (np. *Listeria* nie tworzy przetrwalników, str. 37) i literówki (np. defensywa zamiast defensyna, str. 39).

W niektórych fragmentach Autorka przeplata słownictwo polskie z angielskim, np. na str. 31 wymienia cztery formy pleomorfizmu *C. albicans*, z czego trzy są po polsku, a ostatnia nie jest przetłumaczona. Doktorantka używa również dosłownych przekładów z języka angielskiego, takich jak Sabourauda agar, Sabourauda bulion czy tryptozowo-sojowy agar. W



pracach polskojęzycznych powinny być użyte sformułowania: pożywka lub agar Sabourauda, bulion Sabourauda czy agar tryptozowo-sojowy.

Drobnej korekty wymaga również rozdział Wnioski. W punkcie 2 Autorka stwierdza, że „biofilm mieszany *Candida* - *S. mutans* charakteryzował się większą biomasą biofilmu, a także znaczącą ilością komórek *Candida spp.* i *S. mutans*”, co jest sprawą dość oczywistą. We wniosku tym, najbardziej istotna informacja zawarta jest w drugim zdaniu: „Udział *Lactobacillus spp.* w 3 gatunkowym biofilmie *Candida-Streptococcus-Lactobacillus* powodował obniżenie liczebności komórek *S. mutans* i *C. albicans*” i właśnie to stwierdzenie powinno, moim zdaniem, stanowić główną treść wspomnianego wniosku.

Zdecydowanie brakuje mi również porównania ocenianych w pracy Doktorantki terapii. Ogromna część doktoratu dotyczy metod walki z patogenami obecnymi w jamie ustnej i pewną klamrą, spinającą to opracowanie, byłoby zestawienie skuteczności badanych przez nią sposobów leczenia próchnicy, kandydozy i chorób przyzębia, ze wskazaniem potencjalnych wad i zalet obu terapii.

Powyższe potknięcia językowe i błędy redakcyjne nie zmniejszają wartości pracy doktorskiej, w związku z tym oceniam ją pozytywnie.

Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.) i zawiera obszerny materiał stanowiący dużą wartość poznawczą. Doktorantka bardzo dobrze opanowała warsztat badawczy, co więcej zaproponowała nowe, alternatywne sposoby terapii, które niewątpliwie mogą być wykorzystane na szerszą skalę. Ponadto Autorka wykazała się umiejętnością planowania doświadczeń i wszechstronnością ujęcia podjętego tematu, co świadczy o jej dojrzałości naukowej.

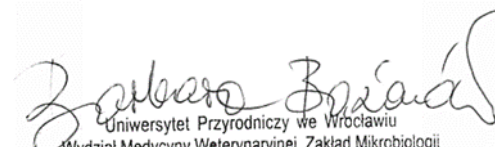


UNIwersytet PRZYRODniczy we WROCLAWIU

ZAKŁAD MIKROBIOLOGII WYDZIAŁU MEDYCYNY WETERYNARYJNEJ

W związku z tym zwracam się do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Medycze Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie mgr inż. Magdaleny Pajączkowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ze względu na duży wkład pracy Doktorantki, duże znaczenie naukowe tematu i sposób przedstawienia wyników, wnioskuję również do Przewodniczącej oraz Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Medycze Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o wyróżnienie pracy doktorskiej stosowną nagrodą.



Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu
Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Zakład Mikrobiologii
dr hab. Barbara Bażanów, prof. UPWr
Wrocław University of Environmental and Life Sciences
Faculty of Veterinary Medicine, Division of Microbiology
Barbara Bażanów, DVM, PhD, associate professor

dr hab. Barbara Bażanów, prof. uczelni