



F017/2023/10/37

Bydgoszcz 02.10.2023 r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej Pani mgr Karoliny Dydak, pt. „Wytworzenie i ocena prototypowych produktów z bakteryjnej celulozy do zastosowań farmaceutycznych i leczniczych”, wykonanej pod kierunkiem Pani dr hab. n. med. Marzenny Bartoszewicz w Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii Farmaceutycznej i Parazytologii Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu i promotorstwem pomocniczym dr. hab. Adama Junki, prof. UMW

Wraz z rozwojem medycyny, następuje wzrost zakażeń. Następuje też na całym świecie rozwój wśród drobnoustrojów wieloantybiotykooporności, a nawet oporności na wszystkie antybiotyki dostępne w leczeniu zakażeń. Żeby spowolnić ten proces konieczne staje się odkrywanie nowych rozwiązań powstrzymujących rozwój zakażeń. Stąd, poszukiwanie nowych ścieżek badawczych, które mogłyby te zadania udoskonalic jest potrzebne. Zatem, wybór tematu pracy doktorskiej, przedstawionej mi do recenzji w tym obszarze badań, uważam za trafny i wpisuje się on w aktualne potrzeby środowiska medycznego.

Przedstawiona do oceny dysertacja doktorska stanowi spójny tematycznie zbiór 3. oryginalnych publikacji, które zostały opublikowane w latach 2018-2022, o łącznej punktacji IF - 15,192, MEiN – 320. Wszystkie publikacje są pracami wieloautorskimi. Liczba współautorów wynosi w dwóch pracach 8, a w jednej 9. We wszystkich pracach Doktorantka jest pierwszym autorem.

Zgodnie z oświadczeniami współautorów Jej udział procentowy w powstaniu publikacji był wiodący i stanowił 60% w jednej publikacji, a w dwóch – po 65%. Jednak nie dostrzegłam oświadczenia Doktorantki. Z informacji ujętych w poszczególnych publikacjach wynika, że Pani mgr Karolina Dydak w publikacji nr 1 uczestniczyła wśród 4. osób w selekcji danych, przeprowadzała badanie, wśród 4. współautorów brała udział w pisaniu pracy. W publikacji nr 2 uczestniczyła z jednym współautorem w koncepcji pracy, metodologii, analizie, wśród 6. osób - w przeprowadzaniu badań, przygotowała pracę do publikacji wraz z wizualizacją, administrowaniem i pozyskaniem finansowania na badanie. W publikacji nr 3 była zaangażowana z jednym ze współautorów w koncepcję pracy, metodologię i analizę, wśród 4. współautorów w wykonanie badań, wśród 3 – w pisaniu pracy, redagowanie, samodzielnie w wizualizację, a w administrowanie - z jednym współautorem.

Układ przedłożonej do recenzji rozprawy doktorskiej jest bardzo przejrzysty i poprawny przy tego typu formacie pracy. Dysertację doktorską rozpoczyna w języku polskim Wprowadzenie (2 str.), w którym opisano aktualny stan wiedzy na temat celulozy bakteryjnej i jej znaczenia w medycynie oraz esencjonalnie przybliżono problem leczenia zakażeń przewlekłych. Przedstawione zagadnienia są poparte 22 adekwatnymi pozycjami piśmiennictwa. Rozdział ten zawiera zwięzłą i logicznie



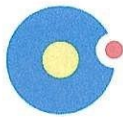
poprowadzoną syntezę informacji, które stanowią doskonałe wprowadzenie do badań przedstawionych w cyklu publikacji oraz wyjaśniają wybór podjętej tematyki badawczej i obiektu badawczego.

W rozdziałach Cel pracy (1 str.) i Realizacja celów naukowych (4 str.), Doktorantka odwołując się do odpowiednich prac eksperymentalnych, przedstawia hipotezy badawcze i wyjaśnia dlaczego podjęta trzy nurty badawcze. A były to:

1. wykonanie powłoki celulozowej na powierzchni implantów nowej generacji wykonanych ze stopu tytanu, niobu i aluminium (niska cytotoksyczność), wysycenie jej gentamycyną – antybiotykiem przeciwbakteryjnym oraz ocena *in vitro* cytotoksyczności i aktywności przeciwdrobnoustrojowej opracowanego implantu (publikacja nr 1),
2. wykorzystanie celulozy jako materiału opatrunkowego i wysycenie jej *ex situ* 5. różnymi środkami antyseptycznymi (Autorka wskazuje, że w czasie realizacji pracy dostępny handlowo był opatrunek celulozowy tylko z poliheksaminą), ocena działania przeciwdrobnoustrojowego wobec drobnoustrojów w biofilmie (publikacja nr 2),
3. wytworzenie na 3. siatkach chirurgicznych dostępnych komercyjnie cienkiej powłoki celulozowej, ocena cytotoksyczności powstałego biomateriału kompozytowego, określenie *in vitro* stopnia zasiedlenia siatek z i bez celulozy przez fibroblasty, ocena przeciwdrobnoustrojowego działania siatek z powłoką celulozową po jej wcześniejszym wysyceniu gentamycyną (publikacja nr 3).

W dalszej części zawarto Piśmiennictwo (22 poz., 2 str.). Jego dobór jest jak najbardziej odpowiedni, powiązany z tematyką pracy i świadczy o bardzo dobrej orientacji Doktorantki w badanej tematyce i umiejętności korzystania ze źródeł literaturowych, w tym 5 najnowszych, opublikowanych w 2022 r. Następnie ujęto Streszczenie w języku polskim i angielskim (po 2 str.), Oświadczenie dotyczące Komisji Bioetycznej (1 str.), Oświadczenie o oryginalności pracy (1 str.), Dorobek naukowy (12 str.), kopie trzech publikacji cyklu (74 str.), Oświadczenia współautorów publikacji cyklu (17 str.).

W realizacji badań, Doktorantka posługiwała się licznymi metodami z zakresu mikrobiologii klasycznej, biochemii, spektrometrii, hodowli komórkowej, a także nowoczesnymi, jak mikroskopia konfokalna, skaningowa mikroskopia elektronowa. Przeprowadziła także analizę statystyczną stosując program GraphPad Prism. Świadczy to o Jej różnorodnych umiejętnościach. W doświadczeniach badała związki przeciwdrobnoustrojowe: gentamycynę, dichlorek oktenidyny, poliheksaminę, powidon jodu, chlorheksydyne, mleczan etakryny, podchloryny, opatrunek ze srebrem. Do otrzymania celulozy bakteryjnej stosowała szczep wzorcowy *Komagataeibacter xylinus* ATCC 53524, a do badań - 11 szczepów wzorcowych, w tym 4 szczepy bakterii Gram-dodatnich, 6 szczepów bakterii Gram-ujemnych, jeden szczep grzyba (*Candida albicans*) oraz po 45 szczepów różnych gatunków izolowanych z zakażonych ran przewlekłych. Stosowała dwie linie hodowli komórkowych.



Wśród najcenniejszych osiągnięć badawczych przedstawionych w ocenianej rozprawie, a dotyczących wytworzonych z powłoką bakteryjnej celulozy implantów kostnych, siatek chirurgicznych i opatrunków, należy wymienić:

1. wykazanie wytrzymałości mechanicznej opracowanych kompozytów na warunki podczas procesu sterylizacji,
2. udokumentowanie, że metoda powlekania implantów nie powoduje wad powierzchni biomateriału,
3. wykazanie niskiej cytotoksyczności wobec fibroblastów i osteoblastów oraz wysokiego stopnia zasiedlania powierzchni powłoki celulozy bakteryjnej przez fibroblasty,
4. ujawnienie zdolności do absorpcji związków przeciwdrobnoustrojowych i ich późniejszego uwalniania do środowiska,
5. udowodnienie działania bójczego użytych związków wprowadzonych do opracowanych materiałów wobec badanych szczepów drobnoustrojów,
6. wykazanie, że spośród zastosowanych antyseptyków wkomponowanych w opatrunki najsilniejsze działanie przeciwbiofilmowe ma powidonu jodu i jest ono silniejsze niż srebra zawartego w porównywanych opatrunkach dostępnych komercyjnie.

Prace wzbogacają liczne ryciny i tabele, które dokumentują wyniki wykonanych badań.

O dojrzałości Autorki publikacji świadczy umiejętnie prowadzona dyskusja w każdej z prac cyklu. Kieruje się ostrożnością w interpretacji uzyskanych wyników. Wskazuje, że wszystkie wyniki badań przeprowadzono *in vitro* i wymagają one dalszych ocen, by mogły być zastosowane w praktyce klinicznej.

Mimo wyjątkowej staranności w przygotowaniu rozprawy, Doktorantka nie ustrzegła się nieprawidłowych określeń, np. we Wprowadzeniu pisze „medium” zamiast podłoże, „lekooporność” zamiast antybiotykooporność, wprowadzony skrót BC odnoszący się do bakteryjnej celulozy, nie zawsze stosuje konsekwentnie. Ponadto proszę o udzielenie odpowiedzi na następujące pytania: Czym kierowano się przy wyborze gentamycyny? Jakie było jej stężenie końcowe w wytworzonych kompozytach, podobnie środków antyseptycznych? Czym kierowano się przy wyborze szczepów wzorcowych? Czego były one wzorcem? Jak długo następuje uwalnianie z kompozytu do środowiska zastosowanych związków przeciwdrobnoustrojowych po wprowadzeniu ich do organizmu człowieka? Czy Doktorantka „dotarła” osobiście do publikacji poz. 5 z 1886 r.?

Doktorantka informuje też o swoim dorobku naukowym spoza cyklu prac. Jest współautorką 20 publikacji, część z nich jest z listy A, w 7. spośród nich jest pierwszym autorem, o łącznej wartości IF 28,678 i MEiN 945. Prace te opublikowano w latach 2015-2022. Jest też współautorką podręcznika (40 str.) „Zasady diagnostyki zakażeń krwi” – rekomendacje grupy ekspertów” (MEiN 80). Uczestniczyła aktywnie 40-krotnie w konferencjach naukowych, w tym 10 razy w międzynarodowych, zwykle studenckich. Należy podkreślić ważną inicjatywę jaką było ubieganie się Doktorantki o finansowanie prowadzonych badań, które uzyskała z dwóch źródeł jako kierownik. Ponadto była członkiem zespołu w trzech projektach naukowych. Jest też popularyzatorką wiedzy mikrobiologicznej.



Podsumowanie

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska stanowi pierwsze w Polsce opracowanie dotyczące nowej metody powlekania asortymentu do implantacji i opatrunków. Otrzymane materiały mają wysoką przydatność w zastosowaniach medycznych.

Doktorantka znakomicie wywiązała się z zadań, jakie postawiła przed sobą. Na podstawie wyników uzyskanych w ramach realizacji zadań badawczych sformułowała wnioski, które są odpowiedzią na główne cele badawcze. Praca adresuje ważny i aktualny temat naukowy.

Przeprowadzenie tak różnorodnych doświadczeń, z zastosowaniem różnych metod w celu uwiarygodnienia wyników, wzbogacają wartość pracy. Świadczą też o znajomości podjętej tematyki, metod badawczych, staranności, cierpliwości oraz świadomości i dojrzałości Doktorantki, jako badacza. Wierzę, że wyniki stanowiące rozprawę doktorską, znajdą uznanie w międzynarodowym środowisku naukowym.

Uzyskane w opiniowanej rozprawie doktorskiej wyniki wskazują na potrzebę kontynuacji tych eksperymentów oraz mogą stanowić punkt wyjścia do zainicjowania nowych kierunków badań.

Kierując się przedstawioną pozytywną opinią rozprawy doktorskiej **Pani mgr Karoliny Dydak**, pt. **„Wytworzenie i ocena prototypowych produktów z bakteryjnej celulozy do zastosowań farmaceutycznych i leczniczych”** stwierdzam, że spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 Ustawy z 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789 ze zm.) w związku z art. 179 ust. 2 i 3 Ustawy z 3 lipca 2018 r., przepisy wprowadzające Ustawę - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1669 ze zm.). Wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie rozprawy doktorskiej Pani mgr Karoliny Dydak do dalszych etapów przewodu doktorskiego, rekomendując jednocześnie wyróżnienie rozprawy stosowną nagrodą z uwagi na pionierski charakter przeprowadzenia szeregu wielokierunkowych badań, uzyskanie wartościowych i nowatorskich wyników, które wnoszą istotny wkład we wzbogacenie wiedzy i mogą mieć potencjalny praktyczny wymiar w prewencji zakażeń. Zakres opracowanych zagadnień mieści się w dyscyplinie nauki farmaceutyczne.


Kierownik
Katedry Mikrobiologii
prof. dr hab. Eugenia Gospodarek-Komkowska