

Prof. dr hab. n. med. Stefania Giedrys-Kalemba  
em. kierownik Katedry i Zakładu Mikrobiologii i Immunologii  
Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie

## Recenzja

**rozprawy doktorskiej mgr Justyny Paleczny pt.  
"Ocena skuteczności wybranych środków przeciwdrobnoustrojowych względem  
*Staphylococcus aureus* i *Pseudomonas aeruginosa* hodowanych w warunkach  
imitujących środowisko ran i kości"**

**Promotor: prof. dr hab. n. med. Marzenna Bartoszewicz**

Mimo ogromnego postępu w medycynie w ostatnich dekadach i stosowania różnych leków i szczepionek przeciw drobnoustrojom, zakażenia stały się jednym z głównych przejawów współczesnych chorób zakaźnych. Niezależnie od postaci klinicznej zakażenia, *Staphylococcus aureus* i *Pseudomonas aeruginosa* należą do jednych z najczęściej izolowanych bakteryjnych czynników etiologicznych infekcji. Drobnoustroje te niewątpliwie dominują w zakażeniach ran i kości, zwłaszcza o charakterze przewlekłym. Związane jest to m.in. ze zdolnością tworzenia biofilmu, który chroniąc bakterie ułatwia utrzymywanie się procesu zapalnego, a także utrudnia penetrację i działanie czynników odpornościowych organizmu oraz podawanych substancji przeciwdrobnoustrojowych.

Skuteczne leczenie zakażeń związanych z biofilmem stało się obecnie jednym z wyzwań medycyny, zaś stosowane związki przeciwbakteryjne, oprócz odpowiedniego spektrum działania, powinny wykazywać również właściwości eradykujące biofilm.

W tym kontekście wybór tematu pracy dotyczący oceny skuteczności wybranych środków przeciwdrobnoustrojowych wobec *Staphylococcus aureus* i *Pseudomonas aeruginosa* hodowanych w warunkach imitujących środowisko ran i kości, a więc z uwzględnieniem oddziaływania na powstający biofilm, uważam za niezwykle cenny i aktualny, zarówno w aspekcie poznawczym jak i aplikacyjnym.

W skład cyklu będącego przedmiotem rozprawy mgr Justyny Paleczny wchodzi trzy spójne tematycznie, oryginalne artykuły naukowe opublikowane (a więc ocenione pozytywnie przez niezależnych recenzentów) w czasopismach publikujących na zasadzie otwartego dostępu, o wysokim sumarycznym Impact Factor =16.812, wg wykazu MNiSW = 340:

1. Justyna Paleczny, Adam Junka, Malwina Brożyna, Karolina Dydak, Monika Oleksy-Wawrzyniak, Daria Ciecholewska-Juśko, Ewelina Dziedzic, Marzenna Bartoszewicz: The High Impact of *Staphylococcus aureus* Biofilm Culture Medium on In Vitro Outcomes of Antimicrobial Activity of Wound Antiseptic and Antibiotic. *Pathogens* 2021,10,1385 doi.org/10.3390/pathogens10111385; IF<sub>2021</sub> 4.531, MNiSW 100
2. Justyna Paleczny, Malwina Brożyna, Ruth Dudek-Wicher, Karolina Dydak, Monika Oleksy-Wawrzyniak, Marcin Madziła, Marzenna Bartoszewicz, Adam Junka: The medium Composition Impacts *Staphylococcus aureus* Biofilm Formation and Susceptibility to

Antibiotics Applied in the Treatment of Bone Infection. *International Journal of Molecular Sciences* 2022, 23, 11564. doi.org/10.3390/ijms23911564; IF<sub>2021</sub> 6.208, MNiSW 140

3. Justyna Paleczny, Adam Felix Junka, Paweł Krzyżek, Joanna Czajkowska, Alex Kramer, Hicham Benkhai, Ewa Żyfka-Zagrodzińska, Marzenna Bartoszewicz: Comparison of antibiofilm activity of low-concentrated hypochlorites vs polyhexanide-containing antiseptic. (2023) *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 13:1119188. doi: 10.3389/fcimb.2023.1119188; IF<sub>2021</sub> 6,073, MNiSW 100

Kopie powyższych artykułów wraz z ich omówieniem (autoreferat) przygotowanym z zachowaniem typowego dla rozpraw doktorskich układu (wprowadzenie, cele, metodyka, wyniki, wnioski, literatura) wchodzi w skład zbiorczej monografii p.t. "Ocena skuteczności wybranych środków przeciwdrobnoustrojowych względem *Staphylococcus aureus* i *Pseudomonas aeruginosa* hodowanych w warunkach imitujących środowisko ran i kości". Monografia zawiera także streszczenia w jęz. polskim i angielskim, oświadczenia współautorów oraz dotychczasowy dorobek naukowy Doktorantki.

W krótkim *Wprowadzeniu* Doktorantka akcentuje badany problem naukowy związany z wpływem warunków hodowli bakterii na ocenę skuteczności działania substancji przeciwbakteryjnych w zakażeniach ran i kości wywołanych przez tworzące biofilm *Staphylococcus aureus* i *Pseudomonas aeruginosa*. Nawiązuje do stosowanych w leczeniu miejscowym i ogólnym preparatów przeciwbakteryjnych stosowanych miejscowo i dożylnie, przybliża także rolę celulozy bakteryjnej jako nośnika leku. Kilka akapitów poświęca strukturze biofilmu, wpływie warunków środowiska na jego rozwój i metodom/modelom badania biofilmu w kontekście oceny działania związków przeciwbakteryjnych.

Wprowadzenie bardzo dobrze uzasadnia postawienie celów badań własnych. Obejmują one ocenę wpływu warunków środowiska na skuteczność przeciwbakteryjną i przeciwbiofilmową preparatów stosowanych w leczeniu zakażeń ran oraz antybiotyków w leczeniu zapaleń kości. W publikacji 1. badano skuteczność związków stosowanych miejscowo wobec *Staphylococcus aureus* i tworzono biofilm w warunkach środowiska rany i w różnych składach pożywek. W publikacji 2. oceniano wpływ antybiotyków względem *Staphylococcus aureus* w modelu imitującym środowisko kości. W publikacji 3. analizowano wpływ warunków fizycznych na skuteczność przeciwbiofilmową preparatów wykazujących minimalne działania wobec *Pseudomonas aeruginosa* i *Candida albicans*.

W *Metodyce badań* Autorka, wraz ze szczegółowym odniesieniem do poszczególnych publikacji, przedstawia oceniane związki/preparaty/antybiotyki stosowane w leczeniu infekcji ran (7) oraz kości (4), wykorzystane kliniczne szczepy *Staphylococcus aureus* i *Pseudomonas aeruginosa* (50) izolowane z zakażeń ran i kości, szczepy wzorcowe (3) oraz, niejako kontrolnie, szczepy *Candida albicans* (25) o odmiennej budowie. Krótko opisuje warunki hodowli odzwierciedlające środowisko rany czy strukturę kości (podłoża, bioceluloza, hydroksyapatyt), metody związane z oceną biofilmu (analiza utworzonej biomasy, aktywność bakterii w biofilmie, liczba jednostek tworzących kolonie, epifluorescencja), badanie aktywności przeciwbakteryjnej (metoda dyfuzyjno-krażkowa, paskowa, MIC, MBC) oraz aktywności przeciwbiofilmowej (minimalne stężenie eradykujące oraz bakteriobójcze biofilm, ocena eradykacji: na zróżnicowanych powierzchniach, w zależności od czasu ekspozycji na preparat, na modelu biocelulozowym, w warunkach mieszania i w warunkach przepływu). Dodatkowo wymienione są wszystkie zastosowane w publikacjach metody statystyczne.

*Wyniki badań*, także z odniesieniem do publikacji, Doktorantka przedstawia syntetycznie i logicznie, w kolejności prowadzonych etapów badań. Szczegółowe opisy uzupełnione licznymi rycinami i tabelami oraz dyskusje i wnioski zawierają dołączone publikacje. Badania wykazały, że skuteczność przeciwbakteryjna i przeciwbiofilmowa

środków stosowanych w leczeniu zakażeń ran i kości wobec *Staphylococcus aureus*, w warunkach *in vitro*, ściśle zależy od składu pożywki oraz czasu działania, a preparatów zawierających niskie stężenia związków podchlorynowych związana jest głównie z jego właściwościami płuczącymi, a nie oddziaływaniem na biofilm. Uzyskane wyniki wyraźnie wskazują na konieczność stosowania odpowiednich metod i modeli odzwierciedlających miejsce zakażenia w badaniach na skutecznością środków przeciwbakteryjnych.

Wnioski zawarte w monografii stanowią podsumowanie wyników uzyskanych w poszczególnych pracach.

Piśmiennictwo jest starannie dobrane, przedstawione i cytowane. W monografii liczy 23 pozycje. Do tego należy dodać 79, 73 i 39 pozycji wykorzystanych w publikacjach, w których tylko część się powtarza. Autorka wykorzystuje najnowsze artykuły oryginalne obcojęzyczne i strony internetowe, także niektóre publikacje z lat wcześniejszych związane z opracowywanym tematem.

Streszczenia, w języku polskim i angielskim, zawierają najważniejsze wyniki i wnioski dotyczące przedmiotu przeprowadzonych i opublikowanych badań.

W podsumowaniu stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Justyny Paleczny jest wykonana w oparciu o duży materiał, który został kompleksowo i profesjonalnie przeanalizowany oraz opublikowany w trzech pracach oryginalnych. Doktorantka wykorzystuje w swoich pracach szereg różnych technik i metod badawczych o różnym stopniu skomplikowania. Świadczy to o znakomitym przygotowaniu Doktorantki do prowadzenia badań naukowych w dyscyplinie nauki farmaceutycznej, tak teoretycznym jak i warsztatowym. W oświadczeniach współautorów publikacji wszyscy podkreślają wiodący wkład mgr Justyny Paleczny przy opracowaniu koncepcji i metodologii, wykonywaniu części eksperymentalnej, analizie wyników i redagowaniu prac oraz wyrażają zgodę na przedłożenie publikacji jako części spójnej tematycznie rozprawy doktorskiej.

Przygotowana w sposób klasyczny dla rozpraw doktorskich monografia zbiorcza jest przedstawiona w sposób jasny i przejrzysty, zawiera istotne informacje o założeniach, celach i metodach przeprowadzonych badań oraz uzyskanych wynikach i wnioskach.

Wnioskuje o wyróżnienie rozprawy mgr Justyny Paleczny pt. "Ocena skuteczności wybranych środków przeciwdrobnoustrojowych względem *Staphylococcus aureus* i *Pseudomonas aeruginosa* hodowanych w warunkach imitujących środowisko ran i kości"

Uzasadnienie:

- praca prezentuje bardzo wysoki poziom. Przeprowadzono kompleksowe badania skuteczności przeciwbakteryjnej i przeciwbiofilmowej licznych preparatów stosowanych w leczeniu zakażeń ran i kości wobec klinicznych szczepów *Staphylococcus aureus* i *Pseudomonas aeruginosa*,
- zastosowano szereg nowoczesnych technik i modeli badawczych, szczególnie w aspekcie oceny biofilmu, w warunkach zbliżonych do panujących w infekcji rany i kości, co pozwoliło wyraźnie uwypuklić konieczność doboru odpowiednich metod i modeli do badań nad substancjami o działaniu przeciwbakteryjnym z uwzględnieniem głównie skuteczności działania na istotny w zakażeniu, tworzony przez drobnoustroje biofilm,
- praca posiada zarówno walory poznawcze jak i aplikacyjne,

- wyniki badań przedstawione w publikacjach 1. i 2. zostały przeprowadzone w ramach grantu dla Młodych Naukowców STM.D230.20.127, w publikacji 3. w ramach grantu NCBiR nr 2017/27/B/NZ6/02103,

- wyniki badań zostały opublikowane w języku angielskim, w trzech, bardzo obszernych pracach oryginalnych, o wysokim sumarycznym IF=16.812. Tym samym stały się łatwo dostępne szerokiemu gronu odbiorców do porównania i praktycznego wykorzystywania. We wszystkich pracach mgr Justyna Paleczny jest pierwszym autorem, w jednej także autorem korespondencyjnym.

Rozprawa doktorska, autorstwa mgr Justyny Paleczny spełnia warunki określone w art. 187 ust. 1 i 2 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r., poz. 1668). Wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie rozprawy mgr Justyny Paleczny do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora.

Szczecin, 09 października 2023 r.

Prof. dr hab. n. med.  
Stefania Giedrys-Kalemba  
specjalista mikrobiolog

1-012473