

RN-BF 4100.2.2021

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu  
BIURO RPH/19853/2023  
RADY DISCYPLINY NAUKI FARMACEUTYCZNE

Podpis F.ralewsko  
02.11.2023

Gdańsk 10 09 2023

## RECENZJA

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

Rozprawa doktorska lekarza medycyny Pani mgr Justyny Paleczny została zrealizowana w Katedrze Mikrobiologii Farmaceutycznej i Parazytologii Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu pod kierunkiem Promotora -Pani Profesor dr hab. Marzenny Bartoszewicz.

Praca porusza niezwykle istotne naukowo oraz z punktu widzenia praktyki lekarskiej zagadnienie dotyczące skuteczności wybranych antyseptyków (obejmujących jedne z najczęściej stosowanych w praktyce preparatów) oraz antybiotyków względem dwóch szczepów bakteryjnych – gronkowca złocistego (*Staphylococcus aureus*) oraz pałeczki ropy błękitnej (*Pseudomonas aeruginosa*) hodowanych w warunkach imitujących środowisko rany oraz kości.

Jak pisze Autorka infekcje ran -często mogące być powikłane zapaleniem kości – stanowią bardzo znaczący problem współczesnej medycyny. Są one przyczyną zawyżonej chorobowości, znacznego pogorszenia jakości życia, a niekiedy nawet śmiertelności pacjentów. Generują również wysokie koszty związane z leczeniem oraz konieczną hospitalizacją. Szczególny problem stanowią między innymi częste infekcje ran stóp u chorych na cukrzycę gdzie roczne ryzyko rozwoju tego powikłania wynosić może aż 7% a zapalenie kości rozpoznaje się nawet u blisko 70% chorych hospitalizowanych z powodu infekcji rany. Zakażenia mogą być wywoływane przez różne drobnoustroje jednak najczęstszym patogenem bywa gronkowiec złocisty a wśród bakterii gram ujemnych z ran w tej grupie pacjentów

najczęściej hoduje się szczepy *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, oraz *Proteus species* jak również *Pseudomonas aeruginosa*. Ze względu na olbrzymią i stale wzrastającą liczbę chorych zakażenia w tej grupie pacjentów stanowią ważny problem kliniczny, dotyczy on jednak szerszej populacji osób, u których dochodzi do rozwoju ran przewlekłych.

Rzetelna diagnoza bakteriologiczna jest podstawą dla wdrożenia racjonalnej i celowanej antybiotykoterapii ograniczając w wielu wypadkach nieuzasadnione stosowanie antybiotyków o zbyt szerokim spektrum – w ten sposób może przyczyniać się do ograniczenia zjawiska uodpornienia bakterii na dostępne antybiotyki stanowiącego olbrzymi problem współczesnej mikrobiologii. Specjaliści zwracają uwagę na ryzyko związane z gwałtownym, obserwowanym w ostatnich latach wzrostem antybiotykoodporności, która może prowadzić do dramatycznego zwiększenia śmiertelności na świecie.

Wirulencja patogenu jest kluczowym elementem patofizjologicznym w infekcjach ran.

Do czynników związanych z wirulencją patogennych drobnoustrojów zalicza się między innymi produkowane przez mikroorganizmy białka. Ostatnie lata przyniosły jednak doniesienia o szczególnej roli biofilmu - według niektórych autorów może on być obecny nawet w 60% ran przewlekłych w porównaniu z 6% ran ostrych. Przyczynia się on do spowolnienia procesu gojenia i wykazuje wysoką odporność na działanie środków przeciwbakteryjnych co zwiększa zagrożenie dla zdrowia a niekiedy nawet życia pacjenta.

W leczeniu infekcji ran znajdują zastosowanie antyseptyki czyli środki chemiczne, które spowalniają i hamują rozwój drobnoustrojów na zewnętrznych powierzchniach ciała oraz działają prewencyjnie jak również antybiotyki.

W przypadku większości pacjentów z klinicznymi cechami infekcji rany konieczne jest jak najszybsze wdrożenie terapii przeciwbakteryjnej – początkowo empirycznej a następnie skorygowanej zależnie od wyników badania bakteriologicznego. Swoje postępowanie

klinicyście opiera tutaj przede wszystkim na informacji uzyskanej z laboratorium mikrobiologicznego. Wynik tego badania może decydować o skuteczności terapii szczególnie w przypadku ran powikłanych zajęciem głębszych tkanek oraz zapaleniem kości.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska stanowi cykl trzech publikacji- łączny IF wynosi 16.8212 a punktacja MNiSW 340.

Rozprawa zawiera: wykaz artykułów naukowych wchodzących w skład rozprawy (wraz z punktacją), streszczenia w języku polskim oraz angielskim, autoreferat obejmujący wprowadzenie, cele pracy, metodykę i wyniki badań oraz wnioski i spis literatury, oświadczenia autorów, opis dorobku naukowego Autorki oraz następujące publikacje wchodzące w skład cyklu będącego przedmiotem rozprawy:

1. Paleczny J, Junka A, Brożyna M, Dydak K, Oleksy-Wawrzyniak M, Ciecholewska-Juško D, Dziejczak E, Bartoszewicz M. The High Impact of *Staphylococcus aureus* Biofilm Culture Medium on In Vitro Outcomes of Antimicrobial Activity of Wound Antiseptics and Antibiotic. *Pathogens*. 2021 Oct 26;10(11):1385.
2. Paleczny J, Brożyna M, Dudek-Wicher R, Dydak K, Oleksy-Wawrzyniak M, Madziara M, Bartoszewicz M, Junka A. The Medium Composition Impacts *Staphylococcus aureus* Biofilm Formation and Susceptibility to Antibiotics Applied in the Treatment of Bone Infections. *Int J Mol Sci*. 2022 Sep 30;23(19):11564.
3. Paleczny J, Junka AF, Krzyżek P, Czajkowska J, Kramer A, Benkhail H, Żyfka-Zagrodzińska E, Bartoszewicz M. Comparison of antibiofilm activity of low-



concentrated hypochlorites vs polyhexanide-containing antiseptic. *Front Cell Infect Microbiol.* 2023 Mar 15;13:1119188.

Wszystkie publikacje są pracami oryginalnymi zostały ogłoszone w prestiżowych czasopismach międzynarodowych, indeksowanych w najważniejszych bazach danych i wysoko punktowanych a Doktorantka jest w nich pierwszą autorką.

W pierwszej pracy Doktorantka wskazała, że skuteczność *in vitro* powszechnie stosowanych antyseptyków takich jak oktenidyna, PHMB, chlorkeksydyna i roztwory podchlorynu oraz badanego antybiotyku stosowanego miejscowo (gentamycyna) w kontekście hamowania wzrostu bakterii oraz eradykacji biofilmu była zależna od składu medium w jakim badane były drobnoustroje.

Druga publikacja dotyczyła skuteczności przeciwbakteryjnej oraz przeciwbiofilmowej czterech wybranych antybiotyków (gentamycyny, wankomycyny, lewofloksacyny oraz ciprofloksacyny, które są stosowane w terapii zapaleń kości) tym razem w modelu zbliżonym do środowiska kostnego. Zgodnie z zaleceniami European Committee on Antimicrobial Susceptibility- w celu oznaczenia wrażliwości drobnoustrojów na badane antybiotyki zwykle używane są pożywki o standardowym składzie, który istotnie różni się od środowiska rany a także zainfekowanej kości. Podobnie jak w pierwszej publikacji również tutaj Autorka stwierdziła, że skład pożywki zastosowanej w laboratorium do hodowli drobnoustrojów ma istotne znaczenie i wpływa na zdolność bakterii do wzrostu i tworzenia biofilmu, a także na skuteczność badanych antybiotyków w tym wypadku względem gronkowca złocistego czyli bakterii która jest najczęstszym patogenem odpowiadającym za rozwój zapalenia kości.

Dodatkowo Doktorantka zaobserwowała istnienie związku czasu ekspozycji patogenów na działanie badanego preparatu przeciwbakteryjnego a stopniem eradykacji biofilmu.

Celem trzeciej publikacji była z kolei ocena wpływu czynników fizycznych na skuteczność badanych preparatów antyseptycznych względem biofilmu tworzonego przez szczepy *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* (z uwagi na różnicę w strukturze biofilmu tworzonego przez te droboustroje) - dodatkowo aby poszerzyć spektrum badania włączono do oceny szczepy drożdżaków *Candida albicans*. Należy podkreślić że jest to zagadnienie o ogromnym znaczeniu praktycznym ponieważ właściwa antyseptyka stanowi podstawę leczenia ran.

W swojej pracy Doktorantka porównywała trzy antyseptyki o różnym składzie oraz wykazała iż w modelach statycznych szeroko rekomendowane wcześniej preparaty oparte o związki podchlorynowe wykazują bardzo niską aktywność przeciwbiofilmową, która nieco poprawiła się w modelu przepływowym. Wyniki te wskazują według Autorki, że skuteczność tych preparatów opiera się raczej na ich działaniu fizycznym- płuczącym -z niewielkim efektem cytotoksycznym. Znacznie lepiej pod tym względem wypadły antyseptyki zawierające poliheksanid. Obserwacje te mogą mieć istotne znaczenie dla tworzenia w przyszłości zaleceń dotyczących postępowania antyseptycznego w leczeniu ran.

Przedstawiony przez Doktorantkę cykl publikacji jest spójny pod względem tematycznym. Wszystkie prace, a także autoreferat, zawierają szczegółowy opis bardzo bogatej metodologii, Autorka również doskonale uzasadnia wybór materiału badawczego. Lektura publikacji- w zakresie techniki badań niezwykle ciekawa-choć może nieco trudna dla klinicysty- jest przede wszystkim źródłem ważnych naukowo wniosków, ale pozwala również zrozumieć jak ogromne znaczenie ma praca laboratorium mikrobiologicznego dla praktyki klinicznej. Pod tym względem pewien niedosyt budzi część poprzedzająca załączone publikacje- wydaje się że należałoby nieco szerzej omówić i podkreślić znaczenie podjętych zagadnień dla osób zajmujących się leczeniem ran w codziennej praktyce.

Rozprawa doktorska Pani mgr Justyny Paleczny cechuje się niezwykle staranną szatą edytorską bardzo brakuje jednak spisu stosowanych skrótów, który znacznie ułatwiłby czytanie dysertacji.

Przedłożona do zaopiniowania rozprawa doktorska mgr Justyny Paleczny spełnia wymogi formalne stawiane pracom doktorskim. Nowatorskie i zaawansowane metody badawcze przyczyniają się do pogłębienia wiedzy na temat badanych zjawisk. Na podkreślenie zasługuje imponujący dorobek naukowy, opanowanie metodologii i zaawansowany warsztat badawczy Autorki oraz dojrzałość dyskusji zamieszczonych w poszczególnych publikacjach świadczące o Jej doskonałym przygotowaniu merytorycznym.

Stwierdzam, że rozprawa spełnia warunki określone w art.187 ust.1 i2 ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z roku 2018, poz.1668 ze zm.), wnoszę do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie rozprawy mgr. Justyny Paleczny do dalszych etapów postępowania o nadanie tytułu stopnia naukowego doktora oraz o wyróżnienie rozprawy.

Z wyrazami szacunku



dr hab.med. Anna Korzon-Burakowska  
Zakład Dydaktyki i Prewencji  
Katedra Nadciśnienia Tętniczego i Diabetologii  
Gdański Uniwersytet Medyczny