

Wrocław, 13. 05. 2019.

OCENA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Pt. Wytworzenie i ocena aktywności przeciwbiofilmowej prototypowego opatrunku celulozowego o kontrolowanej szybkości uwalniania substancji

przeciwdrobnoustrojowej

Lek med. Konrada Pańczaka

Przygotowana na zlecenie Dziekanatu Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, zgodnie z uchwałą nr 828/04/2019 podjętą w dniu 25 kwietnia 2019 r. podpisanym przez Panią Dziekan prof. dr hab. Małgorzatę Sobieszczańską.

W ostatnich latach odnotowuje się wprawdzie olbrzymi postęp w dziedzinie leczenia zakażonych ran przewlekłych, to jednak osiągnięcie pełnego sukcesu terapeutycznego jak dotąd nie zadawała. Skłania to do postawienia tezy, że konieczna jest implementacja skuteczniejszych strategii prowadzących do eradykacji zakażeń ran przewlekłych oraz przyspieszenia procesu gojenia prowadzącego do poprawy zdrowia i statusu socjo-ekonomicznego pacjenta.

Bakteryjna celuloza jest biopolimerem wytwarzanym przez bakterie kwasu octowego. Pod względem możliwości aplikacyjnych, cechuje ją znaczna przewaga w porównaniu do celulozy roślinnej, związana między innymi z wysoką czystością, porowatością, przepuszczalnością dla cieczy i gazów, korzystnymi właściwościami absorpcji oraz uwalnianiem płynów oraz wyjątkowo wysoką odpornością na rozrywanie. BC charakteryzuje się także wysoką biokompatybilnością i brakiem cytotoksyczności, co predysponuje ją do zastosowań biomedycznych. Co więcej, polimer ten może być w tani i prosty sposób modyfikowany – zarówno w aspekcie jego właściwości fizycznych i chemicznych, jak i jego impregnacji w związki o charakterze przeciwzapalnym czy przeciwdrobnoustrojowym.

Tak więc temat pracy doktorskiej lek. med. Konrada Pańczaka uważam za jak najbardziej aktualny, godny opracowania. Zadaniem badawczym doktoranta było wytworzenie i analiza właściwości fizycznych i biologicznych nośników biocelulozowych wysyconych antyseptykami: dwuchlorowodorkiem oktenidyny, poliheksanidyną, powidonem jodu, chlorheksydyną, oraz antybiotykiem gentamycyną, charakteryzujących się zróżnicowaną

szybkością uwalniania substancji aktywnej pod kątem ich zastosowania do eradykacji biofilmu tworzonego przez *S. aureus*, *E. faecalis* i *P. aeruginosa* - drobnoustrojów najczęściej wywołujących zakażenia ran przewlekłych.

Do oceny otrzymałam egzemplarz pracy liczącej 111 stron druku komputerowego łącznie z rycinami, zdjęciami, wykresami i tabelami. Praca ma typowy układ przyjęty w tego typu opracowaniach. W dobrze napisanym i skondensowanym wstępie (str. 5-24) autor przedstawił dynamikę ran przewlekłych i ich znaczenie medyczno-ekonomiczne, leczenie zakażonych ran przewlekłych w świetle aktualnych wytycznych ogólnopolskich, charakterystykę poliheksanidyny, oktenidyny, powidonu jodu, chorheksydyny i gentamycyny.

W dalszej części wstępu Autor omawia opatrunki stosowane w leczeniu ran przewlekłych, a następnie przedstawia charakterystykę opatrunków z biocelulozy bakteryjnej. W rozdziale tym opisano także biofilm jako adaptację drobnoustrojów umożliwiającą im przeżycie w środowisku rany oraz charakterystykę drobnoustrojów poddanych badaniu tj.: gronkowca złocistego, pałeczkę ropy błękitnej i paciorkowca kałowego; najczęstszych czynników etiologicznych odpowiedzialnych za zakażenia ran przewlekłych.

W przedstawionej mi do recenzji pracy brakło wykazu zastosowanych skrótów, co znacznie utrudniało czytanie tego manuskryptu. W tej części pracy zauważyłam nieliczne błędy literowe, opuszczone litery, nieprawidłową odmianę, brak znaków interpunkcyjnych czy też zły szyk zdania (str. 2, 10, 13, 14, 15, 18, 22 i 23), które będą wymagały korekty podczas przygotowania pracy do druku.

Cel pracy (str. 25) został jasno określony zamierzenia badawcze doktoranta dotyczyły m.in. wytworzenia 5 typów prototypowych opatrunków z celulozy bakteryjnej oraz charakterystyki ich właściwości fizycznych i biologicznych. Uzyskane przez doktoranta opatrunki modyfikowano poprzez wysycenie ich czterema ww antyseptykami oraz antybiotykiem gentamycyną, a następnie poddano wytworzone opatrunki celulozowe ocenie ich przydatności do eradykacji biofilmów *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* oraz *Enterococcus faecalis*.

W rozdziale Materiał i Metody (str. 26-40) Autor przedstawił charakterystykę oraz pochodzenie badanego materiału. Przedmiotem badań był szczep *Staphylococcus aureus* z Amerykańskiej Kolekcji Szczepów Wzorcowych o numerze 33591, który charakteryzował się opornością na metycylinę oraz drugi o numerze 6538; metacylono-wrażliwy. Do badań użyto także wzorcowe szczepy *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 oraz *Enterococcus*

faecalis ATCC 29212. Do wytwarzania opatrunków celulozowych zastosowano szczep *Komagataeibacter xylinus* 53524. Trzy ostatnio wymienione szczepy pochodziły z Kolekcji Szczepów Katedry i Zakładu Mikrobiologii Farmaceutycznej i Parazytologii Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Analityki Medycznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. W rozdziale tym przedstawiono szczegółową charakterystykę wszystkich metod badawczych zastosowanych w pracy łącznie ze schematem ilustrującym wykonanie metody A.D.A.M., a także podano metody statystyczne opracowania wyników.

W tej części pracy Autor nie ustrzegł się nielicznych błędów literowych, opuszczone litery, brak łącznika zdań, nieprawidłowe litery (str.26-40), które będą wymagały korekty. Na str. 40 Autor pisze dimetylosulfotlenek powinno być dwumetylosulfotlenek, ponieważ praca pisana jest w języku polskim, a zatem wymaga, to zmiany. Ponadto na str. 29 niefortunnie użyto wyrazu ocierano zamiast osuszano oraz zapiekaniu, a powinno być prażeniu. W wielu miejscach tej części pracy Autor używa cytuję „12 lub 96 dołkowe płytki” proponuję zastąpić to słowem wgłębienia lub studzienki chociaż w materiale i metody pojawia się też poprawna nazwa studzienki proponuję to ujednolicić.

Wyniki badań (str. 42-90) lek. med. Konrad Pańczak przedstawił na 3 rycinach, 3 zdjęciach, 27 wykresach i w 7 tabelach. Rozdział ten został dobrze opracowany, na podkreślenie zasługuje czytelne przedstawienie wyników badań w formie wykresów i tabel, które doskonale obrazują uzyskane wyniki. We wstępnych badaniach autor podjął się analizy wrażliwości badanych drobnoustrojów na antyseptyki (oktenidynę, poliheksanidynę, powidon jodu, chlorheksydynę) i antybiotyków gentamycynę względem form planktonicznych oraz biofilmu referencyjnych szczepów gronkowca złocistego, pałeczki ropy błękitnej oraz paciorkowca kałowego. Uzyskane wyniki pozwalają na analizę zależności między zastosowanym stężeniem środka przeciwdrobnoustrojowego, a siłą jego oddziaływania bójącego. Z analizy wyników tych badań wynika, że formy planktoniczne *S. aureus*, *P. aeruginosa* cechują się wrażliwością na badane związki przeciwdrobnoustrojowe, podczas gdy *S. faecalis* wykazywał oporność na gentamycynę. Wrażliwość biofilmów badanych drobnoustrojów na antyseptyki i antybiotyków była wyraźnie niższa w porównaniu do wrażliwości form planktonicznych. Bardzo istotnym osiągnięciem Doktoranta było wykazanie, że nośniki celulozowe charakteryzujące się najwyższą porowatością mogą stanowić alternatywę dla stosowanych w praktyce klinicznej opatrunków hydrożelowych i hydrowłóknistych, natomiast opatrunki celulozowe o niskiej porowatości mogą być używane w charakterze opatrunków wtórnych. Warto zauważyć, że Autor wykazał także wysoką przydatność powidonu jodu uwalnianego z nośnika celulozowego do eradykacji biofilmów

ww drobnoustrojów. Na koniec lek. med. Konrad Pańczak udowodnił brak cytotoksyczności wytworzonych przez siebie prototypowych opatrunków celulozowych względem linii fibroblastów, komórek odpowiedzialnych za proces gojenia się rany.

W rozdziale dyskusja (str.91-102) doktorant omawia osiągnięte wyniki badań własnych w porównaniu z badaniami innych autorów. Dyskusja przeprowadzona jest rzeczowo, dane z literatury przytoczone zostały prawidłowo i świadczą one o krytycznym podejściu do interpretacji wyników badań własnych, a także dowodzą wszechstronności i umiejętności pracy naukowej Kandydata. W tej części pracy str. 92 błędnie zacytowano autora; cytuję „dane opublikowane przez Ruhasa i wsp. 38”- pod tym numerem w spisie piśmiennictwa figuruje Maftahi.

Na zakończenie pracy Autor przedstawia 4 wnioski (str.103), które są bardzo dobrze sformułowane i mają uzasadnienie w wynikach badań.

Na uznanie zasługuje również znakomicie opracowane streszczenie pracy (str.104-105), które w zwięzłym nowoczesnym stylu oddaje meritum pracy.

Literatura (str. 106-111) zawiera 58 cytowanych prac, głównie anglojęzycznych. Stanowi ono silną pozycję dysertacji, gdyż jest ściśle tematycznie i pochodzi z ostatnich lat.

Na podkreślenie zasługuje fakt, że 31 cytowanych prac zostało opublikowanych w latach 2015-2019. Warto zwrócić także uwagę na to, że lek. med. Konrad Pańczak przytacza prace nie tylko autorów zagranicznych ale także 18 pozycji piśmiennictwa polskiego.

Z obowiązku recenzenta chcę zwrócić uwagę, że w tej części pracy znaleziono wiele uchybień związanych z brakiem spacji między wyrazami, brakiem znaków interpunkcyjnych przy podawaniu strony od do w poszczególnych czasopismach, czy też jak w poz. 1 brak roku wydania i nazwy czasopisma w którym praca została opublikowana, co będzie wymagało korekty przy przygotowaniu pracy do druku.

Czego możemy dowiedzieć się z tej pracy? Dowiadujemy się że:

- Wytworzone typy prototypowych opatrunków z bakteryjnej celulozy mogą stanowić funkcjonalną i ekonomicznie opłacalną alternatywę dla nowoczesnych opatrunków stosowanych do leczenia ran przewlekłych.
- Modyfikacje nośników celulozowych prowadzić mogą do uzyskania opatrunków o kontrolowanej szybkości uwalniania substancji przeciwdrobnoustrojowej.
- Opatrunki celulozowe wysycone powidonem jodu mogą znaleźć zastosowanie w terapii zakażonych ran przewlekłych.

- Opatrunki celulozowe o wysokiej gęstości usieciowania i wysokiej objętości mogą służyć jako opatrunki wtórne dla nośników celulozowych nisko usieciowanych i szybko uwalniających ze swojej struktury substancje przeciwdrobnoustrojowe.

Ponadto uzyskane przez doktoranta wyniki badań własnych mogą służyć do personalizacji i optymalizacji sposobów leczenia ran zakażonych przez specyficzne szczepy drobnoustrojów.

Podsumowując stwierdzam, że oceniana praca ze wszech miar odpowiada wymogom stawianym rozprawom doktorskim, stanowi ona cenny wkład w rozwój wiedzy nad wytworzeniem aktywnych przeciwdrobnoustrojowych nośników celulozowych stwarzając tym samym nowe możliwości terapii zakażonych ran przewlekłych co dowodzi dojrzałości naukowej Kandydata. Pragnę podkreślić, że pracę doktorską lek. med. Konrada Pańczaka cechuje aktualność omawianej problematyki oraz walory poznawcze i praktyczne. Uważam, że problem naukowy ocenianej pracy został postawiony i rozwiązany prawidłowo. Cel pracy został osiągnięty, uzyskane wyniki stanowiły podstawę do wyciągnięcia rzeczowych wniosków.

W związku z powyższym oceniając pozytywnie omawianą pracę doktorską stwierdzam, że rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art., 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U Nr 65, poz.595, z późn. zm) i przedstawiam Radzie Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie lek. med. Konrada Pańczaka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wrocław, 13 maja 2019.

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
ZAKŁAD NAUK PODSTAWOWYCH
kierownik
Irena Choroszy-Król
prof. zw. dr hab. Irena Choroszy-Król