



Małopolskie Centrum Oparzeniowo – Plastyczne,
Replantacji Kończyn z Ośrodkiem Terapii Hiperbarycznej
Szpital Specjalistyczny im. Ludwika Rydygiera w Krakowie
os. Złotej Jesieni 1, 31-826 Kraków,
tel. 12 6468291 www.rydygierkrakow.pl
e-mail: mcop@rydygierkrakow.pl

Kraków 20.06.2021

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Ruth Dudek-Wicher, pt.:

**„Ocena in vitro zdolności środków przeciwdrobnoustrojowych do eradykacji biofilmu
tworzonego przez patogeny jamy ustnej”.**

Problem obecności patogenów w jamie ustnej i związanego z tym zagrożenia wpływającego na ryzyko planowanych zabiegów chirurgicznych dotyczy wielu dziedzin zabiegowych poruszających się w tym anatomicznym jak i sąsiadujących obszarach. O ile w chirurgii planowej możemy poprowadzić pacjenta w okresie przygotowawczym tak, by jego flora bakteryjna nie była zagrożeniem dla planowanej operacji o tyle grupa pacjentów przyjmowanych do szpitala w ramach ostrego dyżuru stanowi obszar niekontrolowany o różnego stopnia narażeniu na zakażenia. Stwierdzenie obecności próchnicy jamy ustnej u pacjenta z chirurgicznymi, ostrymi lub przewlekłymi ranami może być przyczyną zakwalifikowania pacjenta do grupy podwyższonego ryzyka niekorzystnego gojenia wynikającego z zakażenia bakteryjnego rany. Jeżeli leczenie inwazyjne dotyczy twarzy, jamy ustnej, gardła i krtani, wówczas informacje o endogennej florze bakteryjnej i możliwościach jej profilaktycznej eradykacji są szczególnie istotne.

Już tylko ta wiedza płynąca z klinicznego doświadczenia zawodowego jest wystarczającą podstawą do podkreślenia znamiennej potrzeby prowadzenia badań nad skutecznymi metodami, które mogą doprowadzić do usunięcia patologicznego biofilmu i do uzyskania korzystnego wyrównania patogenów saprofitycznych jamy ustnej.

Oceniana rozprawa doktorska mgr Ruth Dudek-Wicher, przedstawia typowy układ pracy i składa się z typowych rozdziałów. Strony 1-4 przedstawiają spis treści i poprzedzają spis tabel, rycin i wykresów, które mieszczą się na stronach 5-9. Strony 10 i 11 pracy doktorskiej zawierają wykaz najważniejszych skrótów i symboli.

„Wstęp” pracy w wartościowym ujęciu przedstawia problem patologii flory bakteryjnej jamy ustnej i jej powiązania z zaskakująco szerokim obszarem medycyny.

W pierwszej części wstępu doktorantka przedstawia charakterystykę mikrobiomu jamy ustnej. Oprócz rodzaju diagnozowanych bakterii istotną wydaje się być ich liczba, która przedstawia się w kilogramach na wagę dorosłego człowieka. Ważnym problemem poruszonym przez doktorantkę jest równowaga między koniecznymi do naszej egzystencji bakteriami saprofitycznymi, których jest przykładowo w okrężnicy dorosłego człowieka około 1,2 kg a bakteriami patologicznymi, które pojawiając się w danym ekosystemie mogą być przyczyną zakażeń bakteryjnych. Kolejnym istotnym tematem przedstawionym przez doktorantkę we wstępie pracy jest różnorodność flory bakteryjnej jamy ustnej uzależniona od regionu, kraju lub kontynentu objętego badaniami jego mieszkańców. Doktorantka przedstawia również wagę wpływu diety stosowanej przez pacjenta na jego florę jamy ustnej. Doktorantka opisuje we wstępie rolę mikroorganizmów jamy ustnej w regulacji ciśnienia krwi na drodze spożywanych

w diecie azotanów i azotynów redukowanych do tlenku azotu i jego rozszerzającego działania na naczynia krwionośne. Zależność mikrobiomu jamy ustnej w kardiologii wydaje się być ważnym tematem dla dalszych badań.

Doktorantka przedstawia problem roli mikrobioty jamy ustnej w utrzymaniu homeostazy. Opisuje w przystępny sposób problemy rzutujące na bezpośrednie relacje międzyludzkie, w których ważny jest przykładowo oddech bez nieprzyjemnego zapachu i przedstawia w naukowy sposób, które bakterie uwalniają amoniak lub produkują siarczany a które przeciwdziałają tym reakcjom zwalczając nieprzyjemny zapach z ust.

W dalszej części wstępu doktorantka przedstawia kwestię ryzyka zdrowia uzależnione od składu flory bakteryjnej jamy ustnej. Korelacja składu bakteriologicznego jamy ustnej z wystąpieniem miażdżycy, zapalenia wsierdza, reumatoidalnego zapalenia stawów czy choroby Alzheimera podkreślają ogromną wagę poruszanego tematu. Doktorantka szeroko przedstawia problem dysbiozy czyli zmian mikrobiomu jamy ustnej, które skutkują powstaniem próchnicy. Opisuje również wpływ próchnicy jamy ustnej na stan ogólny organizmu z podkreśleniem bardzo szerokiego ryzyka bakteriologicznego od ryzyka powstawania ropni w wyniku produkcji leukotoksyn do zakażenia wód płodowych u matek ciężarnych z ryzykiem przedwczesnego porodu. Zależność produkcji śliny w regulacji stanu bakteriologicznego została przedstawiona na tle chorób powodujących kserostomię, czyli suchość jamy ustnej.

Doktorantka przedstawia charakterystykę biofilmu tworzonego przez rozmaite drobnoustroje bytujące w jamie ustnej. W jasny sposób przedstawia mechanizmy ich działania i tworzenia biofilmu. Porusza ważny temat *Quorum sensing* będącego swoistą drogą komunikacji pomiędzy szczepami i gatunkami. Podrozdział o chorobotwórczości biofilmu w wartościowy sposób przedstawia problem demineralizacji struktury zębów wynikającej z produkcji substancji wpływających destrukcyjnie jak i z ograniczenia dostępu substancji o potencjalnych możliwościach leczniczych. Doktorantka przedstawia patomechanizm działania bakterii chorobotwórczych z uwzględnieniem poszczególnych szczepów.

Wartościowym podrozdziałem jest przedstawienie biofilmu płytki nazębnej z uwzględnieniem jej faz tworzenia się. Wiedza ta ułatwia zrozumienie mechanizmów prowadzących do zwalczenia płytki nazębnej, na różnych drogach, z uwzględnieniem środków farmakologicznych, których mechanizm działania został przez doktorantkę szczegółowo opisany.

Wstęp pracy obejmujący strony 12-40 w przystępny sposób podkreślił istotność i ułatwił zrozumienie celów pracy doktorskiej.

„Cele” pracy przedstawione na stronie 41-42 przedstawiają cel główny i jego rozbięcie na cele szczegółowe, opisujące plan analizy zdolności tworzenia biofilmu przez różne drobnoustroje w różnych środowiskach, poddanych działaniu wyszczególnionych środków przeciwbakteryjnych, które mają na celu zahamowanie tworzenia biofilmu. Wykazanie skuteczności badanych substancji na określone szczepy bakteryjne flory jamy ustnej rozbite jest na 13 podpunktów szczegółowych prowadzących do realizacji celu głównego.

W rozdziale „**Materiały Metody**”, obejmujący strony 43-65, doktorantka opisuje sposób przeprowadzenia analizy zgodnie z wytyczonymi celami. Na wstępie omawia badane szczepy z wyszczególnieniem 8 szczepów referencyjnych oraz 95 szczepów klinicznych, zobrazowanych tabelą.

Uwagi:

- Na stronie 43 w 4 wersie od góry znajduje się błąd językowy – w tekście jest „...zapaleń gardła, wchodzących pochodzących z kolekcji Katedry...” Wydaje się, że powinno pozostać „pochodzących”
- W akapicie tym zostało napisane, że badaniem objęto 95 szczepów klinicznych izolowanych z kości żuchwy oraz zapaleń gardła. Wśród wyszczególnionych znalazł się *L. rhamnosus*. Na stronie 44 opisane jest pochodzenie tego klinicznego szczepu z powierzchni zębów pacjentów. Dlatego proponuję rozszerzenie opisu źródła badanych szczepów na str 43 w podrozdziale 5.1 „Szczepy bakteryjne”.

Uwagi te mają jedynie znaczenie językowe i nie powinny wpłynąć na ocenę pracy.

Doktorantka w zrozumiały sposób opisuje sposób przeprowadzenia doświadczenia, mającego na celu ocenić zdolność drobnoustrojów do wzrostu po zastosowaniu określonych substancji, w zależności od zastosowania ich na formy planktoniczne lub na formy biofilmowe. Badaniu zostały poddane środki stosowane do płukania jamy ustnej takie jak: Chlorheksydyna, Poliheksanidyna, Chlorek cetylpirydyny i Mieszanina olejków eterycznych.

Zamieszczone w tym rozdziale fotografie wzbogacają walory pracy.

„**Wyniki**” badań zostały przedstawione na stronach 66-93. Wykresy graficzne przedstawiające wzrost poszczególnych szczepów bakteryjnych w różnych środowiskach w czytelny sposób dopełniają wyniki statystyczne zamieszczone w tekście. Podrozdział 6.1 przedstawia wyniki wzrostu form planktonicznych. Podrozdział 6.2 i 6.3 przedstawiają wyniki wzrostu form biofilmowych na płytkach polistyrenowych i krążkach hydroksyapatytowych. Podrozdział 6.4 przedstawia wyniki badań przeżywalności biofilmu bakteryjnego po zadziałaniu czterech wymienionych w rozdziale „Metody” badanych środków przeciwdrobnoustrojowych. Ciekawym wynikiem pracy jest wykazanie różnej aktywności Chlorheksydyny, Poliheksanidyny, Chlorku cetylpirydyny i Mieszaniny olejków eterycznych na różne gatunki. Kolejne podrozdziały przedstawiają wyniki wzrostu bakterii po zastosowaniu płynów z jonami srebra, żelu na bazie sulfonowanych fenoli, oleju kokosowego i miętowego. Zamieszczone obrazy ze skaningowej mikroskopii elektronowej w szczególny sposób dopełniają wiedzę i znacznie podnoszą wartość przedstawionej rozprawy doktorskiej.

„Omówienie wyników i dyskusja” zawarte są na stronach 93 do 114. W rozdziale ty doktorantka odnosi się do istotnych aspektów takich jak potwierdzony wpływ patogenów jamy ustnej na szereg schorzeń ogólnoustrojowych, rozwój biofilmu, zmienność flory bakteryjnej jamy ustnej, utrudnienia eradykacji bakterii w zależności od stopnia zaawansowania zmian i utworzenia płytki nazębnej. Autorka podkreśla istotną rolę profilaktyki i omawia szczegółowo rolę cukrów na tworzenie biofilmu. Doktorantka wyjaśnia wpływ sacharozy i Ksylitolu na hamowanie rozwoju flory grzybiczej i bakteryjnej w formie planktonicznej. Potwierdza znacznie trudniejsze zdolności redukcji bakterii w formie biofilmowej w porównaniu z planktoniczną. Bardzo liczne cytowania i odniesienia do literatury dowodzą na wnikliwą znajomość tematu. Doktorantka w cenny sposób implementuje wyniki własnych badań do zastosowania klinicznego i do profilaktyki dzięki wskazaniu metod zwiększenia skuteczności eradykacji jamy ustnej z uwzględnieniem czasu tworzenia się biofilmu w różnych grupach bakteryjnych. Doktorantka omawia w dyskusji wyniki wszystkich wyznaczonych celów szczegółowych i w obszerny sposób polemizuje z dostępnymi danymi z literatury polskiej i międzynarodowej.

„Wnioski” zamieszczone na stronie 115 składają się z 6 punktów i chociaż nie korespondują bezpośrednio z 13 celami szczegółowymi to w pełni zawierają odpowiedź na postawiony cel pracy.

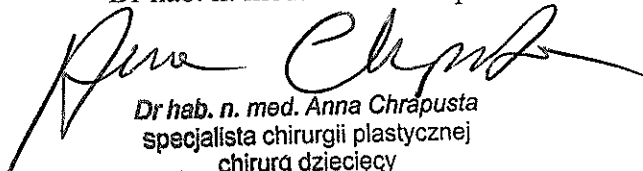
„Streszczenie” w języku polskim i angielskim poprzedza **„Piśmiennictwo”** składające się z 314 pozycji. Bardzo duża liczba cytowanych prac dodatkowo podnosi wartość pracy.

Oceniam wysoko wartość merytoryczną pracy doktorskiej mgr Ruth-Dudek-Wicher i podkreślam wagę poruszonego tematu.

Praca spełnia wszystkie wymogi stawiane pracom doktorskim i warunki pracy doktorskiej określone w artykule 13.1 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o Stopniach Naukowych i tytule Naukowym oraz o stopniach i Tytule w Zakresie Sztuki (Dz.U.nr.65, poz. 595, z późniejszymi zmianami). Dlatego przedkładam uprzejmie Radzie Dyscypliny Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o dopuszczenie mgr Ruth-Dudek-Wicher do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wniosuję jednocześnie do Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutycznej o wyróżnienie pracy.

Dr hab. n. med. Anna Chrapusta



Dr hab. n. med. Anna Chrapusta
specjalista chirurgii plastycznej
chirurg dziecięcy
5953189