



UNIWERSYTET
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU
Wydział Farmaceutyczny
Collegium Medicum w Bydgoszczy

Katedra Propedeutyki Medycyny i Profilaktyki Zakażeń
p.o. Kierownik
dr hab. Aleksander Deptuła, prof. UMK
ul. Curie Skłodowskiej 9, 85-094 Bydgoszcz
e-mail: a.deptula@cm.umk.pl
tel. +48 608208231,

L.Dz.KPMiPZ/2021/06/01

Bydgoszcz, .18.06.2021 r.

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Mgr Ruth Dudek-Wicher pt. „Ocena *in vitro* zdolności środków przeciwdrobnoustrojowych do eradykacji biofilmu tworzonoego przez patogeny jamy ustnej” przygotowanej pod opieką naukową promotor prof. dr hab. n. med. Marzenny Bartoszewicz oraz promotora pomocniczego dr hab. n. med. Adama Junki, prof. UMW w Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii Farmaceutycznej i Parazytologii Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu.

Zakażenia związane z tworzeniem przez drobnoustroje biofilmu są bardzo aktualnym problemem medycznym. Większość drobnoustrojów żyje w postaci biofilmów, jednak różnego rodzaju badania ich właściwości prowadzone są na formach planktonicznych, co najprawdopodobniej prowadzi do uzyskiwania nie w pełni wiarygodnych wyników. Jama ustna człowieka jest niszą ekologiczną, w której występują liczne drobnoustroje składające się na mikrobiom fizjologiczny, a niektóre z nich mogą odgrywać istotną rolę w chorobach zębów i przyzębia. W profilaktyce chorób jamy ustnej od zarania dziejów stosowano różnego rodzaju preparaty oraz zabiegi pielęgnacyjne. Aktualnie na rynku dostępnych jest wiele środków, zarówno do użytku domowego, jak i profesjonalnego, które wykorzystywane są w leczeniu i profilaktyce chorób zębów i przyzębia. Biofilm bakteryjny ma bardzo istotne znaczenie w tworzeniu płytki nazębnej, której rozwój jest początkowym etapem chorób



zębów i przyzębia. Zapobieganie tworzenia się płytki nazębnej oraz jej usuwanie jest podstawową metodą profilaktyki chorób jamy ustnej.

Przedstawiona do recenzji rozprawa mgr Ruth Dudek-Wicher obejmująca 146 stron składa się ze spisu tabel, rycin, zdjęć i wykresów; wykazu skrótów i symboli; wstępu zawierającego osiem podrozdziałów, celu pracy, rozdziału opisującego materiał i metody, w którym Autorka szczegółowo opisuje zastosowane metody badawcze i analizy statystycznej. Kolejny rozdział stanowią obszernie przedstawione wyniki, z bogatą dokumentacją graficzną i fotograficzną. W następnej części pracy Autorka omawia uzyskane wyniki na tle obszernego piśmiennictwa i formułuje wnioski. Praca zawiera streszczenie w języku polskim i angielskim, spis piśmiennictwa obejmujący 314 pozycji. Wartość pracy podnoszą liczne, starannie wykonane wykresy i diagramy, jak również doskonałej jakości fotografie, w tym z mikroskopu elektronowego.

Autorka w sposób bardzo przemyślany zaplanowała część doświadczalną pracy. W pierwszym etapie badań oceniła zdolność badanych drobnoustrojów (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus oralis* i *Streptococcus mitis*) do wzrostu w formie planktonicznej w różnych warunkach hodowlanych. W kolejnym etapie oceniono zdolność badanych drobnoustrojów do tworzenia biofilmu w płytkach polistyrenowych oraz krążkach hydroksyapatytowych w różnych warunkach hodowlanych. Następnym etapem badań była ocena zdolności różnych substancji przeciwdrobnoustrojowych do eradykacji biofilmu tworzonego przez analizowane drobnoustroje z powierzchni hydroksyapatytu. Substancje, które wykorzystano w doświadczeniach to chlorheksydyna (Eludril), chlorek cetylpirydyniowy (VITIS Gingival), poliheksanidyna (Prontoral), mieszanina olejków eterycznych (Bactericin), roztwór jonów srebra w wodzie ozonowanej z azotanem srebra, kwasem ortofosforowym, kwasem mlekowym (Parosin) oraz sulfonowane fenole wchodzące w skład komercyjnego preparatu – żelu HybenX. Na potrzeby pracy stworzono model doświadczalny symulujący warunki występujące w jamie ustnej. Krążki hydroksyapatytowe, na których wyhodowano biofilm, umieszczono w wyciętych w agarze dołkach symulujących

kieszonki dziąsłowe, co miało na celu symulację przepłukiwania kieszonek w gabinecie stomatologicznym.

W przeprowadzonych badaniach Autorka dowiodła, że warunki hodowli istotnie wpływają na tempo wzrostu badanych drobnoustrojów, zarówno w przypadku hodowli planktonicznych, jak i biofilmowych. Badane ziarenkowce Gram-dodatnie wykazywały zbliżone wzory tempa namnażania w podobnych warunkach hodowlanych. Badany szczep *Candida albicans* namnażał się szybciej w atmosferze wzbogaconej w dwutlenek węgla, wolniej w przypadku suplementacji podłoża hodowlanego ksylitolem i sacharozą. *S. mutans* namnażał się wolniej w atmosferze wzbogaconej w dwutlenek węgla oraz w przypadku suplementacji podłoża cukrami. *S. sanguinis* i *S. oralis* wykazywały zbliżony wzorzec tempa wzrostu – suplementacja podłoża cukrami oraz wzbogacenie atmosfery w CO₂ wpływało na wzrost negatywnie. Reasumując, suplementacja podłoża hodowlanego sacharozą i ksylitolem również wpływały na tempo wzrostu drobnoustrojów, a efekt – hamujący lub przyspieszający zależał od gatunku drobnoustroju. Podobny, choć słabiej zaznaczony efekt stwierdzono w przypadku wzrostu w formie biofilmowej na podłożu polistyrenowym.

Hodowla biofilmu *S. aureus* na krążkach hydroksyapatytowych przebiegała szybciej po dodaniu do podłoża, jakim była sztuczna ślina sacharozy, bądź ksylitolu. Podobny efekt obserwowano w przypadku *E. faecalis* i *C. albicans*, podczas gdy, *L. rhamnosus* wzrastał wolniej w przypadku suplementacji podłoża sacharozą, niezależnie od rodzaju atmosfery. Nie obserwowano wpływu atmosfery na tempo wzrostu *S. mutans*, za to widoczny było spowolnienie wzrostu po suplementacji podłoża ksylitolem. Biofilm *S. sanguis*, *S. oralis* i *S. mitis* wzrastał dużo intensywniej w atmosferze wzbogaconej w CO₂.

Jednogatunkowe biofilmy wykazywały zróżnicowaną wrażliwość na działanie uwzględnionych w pracy środków przeciwdrobnoustrojowych i wynikało to ze specyficznych różnic w składzie macierzy biofilmu i funkcjonowaniu drobnoustrojów tworzących poszczególne biofilmy oraz czasem kontaktu ze środkiem przeciwdrobnoustrojowym. Przeżywalność biofilmu *S. aureus* była w przypadku chlorheksydyny i CPC, najniższa w przypadku mieszaniny olejków eterycznych, zupełnie odwrotne wyniki uzyskano dla *E.*



faecalis. W przypadku *C. albicans*, przeżywalność była najniższa w przypadku CPC i PHMB, podczas gdy w przypadku *L. rhamnosus* w przypadku CPC i mieszaniny olejków eterycznych. W przypadku *Streptococcus* spp. najaktywniejsze były PHMB i mieszanina olejków eterycznych. Po rozcieńczeniu badanych substancji sztuczną śliną – mieszanina olejków eterycznych cechowała się najwyższą aktywnością wobec biofilmów *S. aureus* i *C. albicans*, a najniższą względem *E. faecalis* i *Streptococcus* spp. Płyn zawierający jony srebra eradykował bardzo silnie biofilm tworzony przez *Streptococcus* spp., odwrotne wyniki uzyskano dla *L. rhamnosus*. Żel na bazie sulfonowanych fenoli silnie eradykował biofilm *E. faecalis*, *L. rhamnosus* i *S. aureus*. Najwyższą aktywność przeciwbiofilmową wobec najszerszej grupy drobnoustrojów wykazał chlorek cetylpirydyniowy, a najniższą chlorheksydyna.

Wyniki badań zostały przez Doktorantkę przedyskutowane w sposób niezwykle dojrzały na tle bardzo obszernego piśmiennictwa.

Praca przygotowana jest bardzo starannie, jednak pomimo tego, Autorce nie udało się uniknąć pewnych drobnych błędów językowych i literówek, niektóre z nich, z obowiązku recenzenta pozwalam sobie wymienić:

- s. 40 W z walce – winno być – w walce
- s. 44 izolowane były od pacjentów z jamy ustnej – izolowane były z jamy ustnej pacjentów
- s. 94 cierpiących od chorób przewlekłych – cierpiącym na choroby przewlekłe
- s. 94 fakultatywnych anaerobów – fakultatywnych beztlenowców, bądź względnych beztlenowców
- s. 96 środowisku tlenowych jak i mikroaerofilnych – środowisku tlenowym, jak i mikroaerofilnym



UNIWERSYTET
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU
Wydział Farmaceutyczny
Collegium Medicum w Bydgoszczy

Katedra Propedeutyki Medycyny i Profilaktyki Zakażeń

p.o. Kierownik

dr hab. Aleksander Deptuła, prof. UMK


ul. Curie Skłodowskiej 9, 85-094 Bydgoszcz

e-mail: a.deptula@cm.umk.pl

tel. +48 608208231,

Reasumując, pomimo drobnych niedociągnięć, przedstawiona do recenzji praca ma wysoką wartość merytoryczną i poznawczą. Doskonale zaplanowane doświadczenia i wszechstronne ujęcie podjętego tematu dowodzi dojrzałości naukowej Autorki.

Biorąc pod uwagę całość przedstawionej do recenzji rozprawy doktorskiej stwierdzam, iż spełnia ona warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki (Dz. U. RP nr 65 poz. 595 z późniejszymi zmianami, w tym z Ustawą z dnia 28 kwietnia 2017 r. – O zmianie ustawy o stopniach i tytułach naukowych oraz stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki (Dz. U. RP poz. 859 z 2017 r.), dlatego wnoszę do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne o dopuszczenie mgr Ruth Dudek-Wicher do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

p.o. KIEROWNIKA
Katedry Propedeutyki Medycyny
i Profilaktyki Zakażeń

dr hab., n. med. Aleksander Deptuła, prof. UMK