



UNIwersytet Medyczny

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej i Parazytologii

Prof. dr hab. Marzena Bartoszewicz

Wrocław, 21.06.2023

Pani Joanna Kwiecińska-Piróg w 2005 roku uzyskała tytuł magistra analityki medycznej nadany przez Wydział Farmaceutyczny Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, a w 2007 tytuł magistra biotechnologii. Stopień naukowy doktora nauk medycznych nadany przez Wydział Lekarski Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu uzyskała w 2011 na podstawie rozprawy doktorskiej, pt.: „Ocena wytwarzania biofilmu przez pałeczki *Proteus spp.*”, którego promotorem była profesor dr hab. Eugenia Gospodarek.

Osiągnięcie naukowe

Swoją pracę naukowo-badawczą Habilitantka rozpoczęła od chwili zatrudnienia w Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu jako asystent a następnie adiunkt. Przez cały okres pracy uzyskała następującą punktację w publikacjach pełnotekstowych, w tym jako pierwszy autor.

	Liczba publikacji z IF	Wartość IF	Liczba publikacji z punktami MEIN	Liczba punktów MEIN
Publikacje pełnotekstowe	42	130,226	54	2673
Publikacje pełnotekstowe jako pierwszy autor	10	22,417	13	447
Przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych				
Publikacje pełnotekstowe	7	0,145	7	46
Publikacje pełnotekstowe jako pierwszy autor	1	0,145	2	22
Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych				
Publikacje pełnotekstowe	35	130,081	47	2627
Publikacje pełnotekstowe jako pierwszy autor	9	22,272	11	425

INFORMACJE DODATKOWE

- Liczba cytowań według Web of Science: 222 (bez autocytowań: 207)
- Liczba cytowań według Scopus: 245 (bez autocytowań: 230)
- Index Hirscha według Scopus: 9



PODPIS ZAUFANY

JOANNA
KWIECIŃSKA-PIRÓG
19.10.2022 09:16:32 (GAT) + 21
Dokument podpisany elektronicznie
za pomocą zaufanego

Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia zostało zwieńczone cyklem 5 prac opublikowanych w latach 2013-2020 w czasopismach ujętych w bazach:

Journal Citation Reports (JCR), Web of Science i Scopus. We wszystkich wymienionych pracach Habilitantka była pierwszym autorem. Łączny współczynnik Impact Factor cyklu tych prac wynosi IF 13,992, a wartość punktacji MEiN - 205. Wkład Habilitantki polegał na opracowaniu koncepcji pracy, przeprowadzeniu badań, analizie uzyskanych wyników, przygotowaniu artykułów oraz zredagowaniu treści manuskryptu przy procentowym udziale 70- 85%.

H1: Kwiecińska-Piróg J, Skowron K, Zniszczol K, Gospodarek E (2013): The assessment of *Proteus mirabilis* susceptibility to ceftazidime and ciprofloxacin and the impact of these antibiotics at subinhibitory concentrations on *Proteus mirabilis* biofilms. *BioMed Res Int* 2013: 930876, doi:10.1155/2013/930876; IF 2,706, MEiN 30

H2: Kwiecińska-Piróg J, Skowron K, Bartczak W, Gospodarek-Komkowska E (2016): The ciprofloxacin impact on biofilm formation by *Proteus mirabilis* and *P. vulgaris* strains. *Jundashapur J Microbiol*, 9 (4): e32656, doi: 10.5812/jjm.32656; IF 1,017, MEiN 15

H3: Kwiecińska-Piróg J, Skowron K, Bogiel T, Białucha A, Przekwas J, Gospodarek-Komkowska E (2019): Vitamin C in the presence of sub-inhibitory concentration of aminoglycosides and fluoroquinolones alters *Proteus mirabilis* biofilm inhibitory rate. *Antibiotics (Basel)* 11; 8 (3): 116; doi: 10.3390/antibiotics8030116; IF 3,983, MEiN 70

H4: Kwiecińska-Piróg J, Przekwas J, Majkut M, Skowron K, Gospodarek-Komkowska E (2020): Biofilm formation reducing properties of Manuka honey and propolis in *Proteus mirabilis* rods isolated Dr n. med. Joanna Kwiecińska-Piróg 5 from chronic wounds. *Microorganisms* 19; 8 (11): 1823, doi: 10.3390/microorganisms8111823; IF 4,128, MEiN 20

H5: Kwiecińska-Piróg J, Skowron K, Śniegowska A, Przekwas J, Balcerek M, Załuski D, Gospodarek-Komkowska E (2019): The impact of ethanol extract of propolis on biofilm forming by *Proteus mirabilis* strains isolated from chronic wounds infections. *Nat Prod Res* 33 (22): 3293-3297, doi: 10.1080/14786419.2018.1470513; IF 2,158, MEiN 70

Ocena celu naukowego prac, osiągniętych wyników z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

Habilitantka pochyliła się nad problemem tworzenia biofilmu przez drobnoustroje. Pierwsze badania dotyczące biofilmów opierały się na obserwacjach z wykorzystaniem mikroskopów świetlnych optycznych i elektronowych. Dostarczyły one podstawowych informacji dotyczących ich fizjologii, składu i etapów tworzenia. Rozwój metod badawczych pozwala na pozyskiwanie nowych i bardziej szczegółowych informacji, m.in., na temat ich budowy. Obecnie wiadomo, że grubość biofilmu nie przekracza 10-30 nm i składa się z wody, macierzy pozakomórkowej oraz komórek drobnoustrojów. Składnikami budującymi macierz biofilmu są zewnątrzkomórkowe polimery (ang. extracellular polymeric substances, EPS). EPS jest mieszaniną polisacharydów, białek, kwasów nukleinowych i lipidów, pochodzących z wydzielanych przez drobnoustroje zewnątrzkomórkowo enzymów, materiału genetycznego i składników wewnątrzkomórkowych uwalnianych z rozpadających się komórek. Rolą macierzy biofilmu jest stabilizacja komórek drobnoustrojów, tworzenie środowiska wzajemnych interakcji, umożliwienie komunikacji międzykomórkowej, horyzontalnego transferu genów czy ochrona przed szkodliwymi czynnikami środowiska wzrostu. Tworzenie biofilmu jest procesem kilkietapowym a jego zapoczątkowanie jest związane ze wstępnym przyleganiem drobnoustrojów do powierzchni biotycznej lub abiotycznej [6]. Adhezja bakterii lub grzybów do powierzchni, lub do siebie nawzajem, jest procesem złożonym, na który ma wpływ szereg czynników . Do czynników związanych z drobnoustrojami należą: czas wstępnej adhezji, początkowe zagęszczenie drobnoustrojów i cechy morfologiczne komórek, np. składniki ściany komórkowej, obecność rzęsek czy fimbrii. Jeżeli biofilm tworzy się na powierzchni stałej, to adhezję wyznaczają również właściwości powierzchni, na której dochodzi do osiedlania się drobnoustrojów, m.in., jej ładunek, porowatość czy zdolność do zatrzymywania wody . W kolejnym etapie formowania biofilmu dochodzi do namnażania komórek drobnoustrojów i ich różnicowania się. Wytwarzane są duże ilości EPS. Zaczynają tworzyć się mikrokolonie, pomiędzy którymi formują się kanały i pory, biofilm osiąga dojrzałość, którego komórki wykazują znacznie wyższy poziom oporności na czynniki środowiskowe, m.in., na leki przeciwdrobnoustrojowe, niż komórki planktoniczne. Wykazano i opisano 5 mechanizmów oporności bakterii w biofilmie na antybiotyki. Struktura biofilmu jest również niewrażliwa na elementy układu immunologicznego człowieka, a dojrzały biofilm stanowi punkt wyjścia do zakażeń odległych.

Jednym z mechanizmów oporności biofilmu na leki przeciwdrobnoustrojowe jest zdolność komunikowania międzykomórkowego (ang. quorum sensing, QS). Proces ten opiera się na wytwarzaniu i wydzielaniu przez komórki chemicznych cząstek, nazywanych autoinduktorami, które po osiągnięciu odpowiedniego stężenia w środowisku, przyłączają się do odpowiednich białkowych receptorów innych komórek. Efektem tego działania są skoordynowane zmiany w ekspresji określonych genów. QS bakterii Gram-dodatnich opiera się na aktywności krótkich sygnałów oligopeptydowych jako autoinduktorów i układów dwuskładnikowych zbudowanych z receptorów kinaz sensorowych połączonych z błoną cytoplazmatyczną bakterii oraz cytoplazmatycznych czynników transkrypcyjnych odpowiedzialnych za zmianę ekspresji genów. U bakterii Gram-ujemnych rolę autoinduktorów pełnią N-acylowane laktony homoseryny (ang. acyl-homoserine lactones, AHL), będące produktem enzymów typu LuxI. Za pomocą QS mogą być przekazywane sygnały dotyczące ostatniego etapu tworzenia biofilmu, tj. dyspersji. Odrywanie się komórek warstw powierzchniowych biofilmu może stanowić początek kolonizacji drobnoustrojów w innym miejscu. Według Amerykańskiego Narodowego Instytutu Zdrowia (ang. The National Institutes of Health, NIH) zakażenia związane z biofilmem stanowią 65% wszystkich zakażeń i 80% zakażeń o charakterze przewlekłym. Zakażenia związane z obecnością biofilmu dzielą się na zakażenia przy nieobecności wszczepów oraz na zakażenia związane z ciałem obcym (biomateriałem) [7]. Zakażenia przewlekłe bez obecności biomateriału, to: zapalenia przyzębia, zakażenia ran przewlekłych i zapalenie kości i szpiku. Zakażenia związane z biomateriałem to głównie zakażenia powiązane z obecnością: cewników naczyniowych, w tym przede wszystkim cewników centralnych i dializacyjnych, protez stawów, cewników do pęcherza moczowego, sztucznych zastawek serca, rozruszników serca, soczewek kontaktowych czy implantów piersi. Obecnie uważa się, że każdy gatunek bakterii i grzybów ma zdolność tworzenia biofilmu, a więc, teoretycznie każdy z nich może stanowić czynnik etiologiczny wymienionych zakażeń. Wyniki badań prowadzonych w tym temacie pozwalają stwierdzić, że różne gatunki drobnoustrojów mogą tworzyć biofilm z różną intensywnością, co przekłada się na ich udział w patogenezie zakażeń, szczególnie o charakterze przewlekłym lub związanych ze stosowaniem biomateriału.

Pałeczki rodzaju *Proteus* należą taksonomicznie do wyodrębnionej w latach 2016-2017 z rzędu *Enterobacteriales* rodziny *Morganellaceae*. W obrębie rodzaju wyróżniono

obecnie 11 nazwanych gatunków: *P. alimentorum*, *P. cibi*, *P. columbae*, *P. faecis*, *P. hauseri*, *P. inconstans*, *P. mirabilis*, *P. myxofaciens*, *P. penneri*, *P. terrae* i *P. vulgaris*. Ich wspólną charakterystyczną cechą jest dimorfizm morfologiczny, który polega na zdolności zmiany kształtu komórki w zależności od środowiska wzrostu. Dimorfizm bakterii rodzaju *Proteus* polega na występowaniu dwóch postaci morfologicznych, tj. „swimming cells” i „swarming cells”. Formy te są zależne od warunków środowiska wzrostu; „swimming cells” występują w środowisku płynnym, zaś „swarming cells” – na podłożach stałych. „Swarming cells” mogą występować u wielu gatunków bakterii, ale zwykle jest to cecha nielicznej populacji komórek danego rodzaju lub gatunku, wymagająca wilgotnego podłoża do wzrostu. U pałeczek *Proteus spp.* jest to cecha charakterystyczna dla rodzaju i wyraźnie zaznaczona. Komórki „swarming cells” powstają z połączenia kilku – kilkunastu komórek „swimming cells”. Poruszają się szybko po powierzchni podłoża stałego dzięki zwiłokrotnionej liczbie rzęsek obecnych na powierzchni komórek w porównaniu do „swimming cells”. Różnicowanie się komórek *Proteus spp.* do „swarming cells” jest regulowane aktywacją ekspresji operonu *flhDC*, na którą wpływ ma szereg produktów innych genów, np. *umo*, *WosA*, *RppAB* czy *mrp* [30]. Zarówno „swarming cells”, jak i „swimming cells” są związane ze wzrostem mglawicowym (rozpełzłym) *Proteus spp.* i zjawiskiem „rojenia się” widocznego jako centrycznie rozchodzące się kręgi na powierzchni podłoża stałego. Wzrost mglawicowy jest ważnym czynnikiem wirulencji bakterii tego rodzaju. Chorobotwórczość pałeczek *Proteus spp.* jest wynikiem wytwarzania przez komórki bakteryjne szeregu enzymów pozakomórkowych, np. ureazy, inwazyń, deaminaz aminokwasów, hemolizyn czy proteaz immunoglobulin, jak również wiąże się z obecnością struktur ściany komórkowej, tj. fimbrii czy pęcherzyków błonowych (ang. outer membrane vesicles, OMV). Innym uznanym czynnikiem wirulencji pałeczek *Proteus spp.* jest biofilm. Tworzenie biofilmu przez szczepy *Proteus spp.* jest ściśle powiązane z obecnością innych czynników wirulencji, w szczególności: ruchu mglawicowego, fimbrii, rzęsek, ureazy, otoczki polisacharydowej czy katalazy. Biofilm tworzony przez pałeczki *Proteus spp.* w układzie moczowym, z powodu swojego składu chemicznego jest charakterystyczny, gdyż zawiera fosforany magnezowo-amoniowe ($MgNH_4PO_4 \times 6H_2O$; struwit) oraz fosforany wapnia ($Ca_{10}(PO_4)_6 \times CO_3$; apatyt). Powstają one w wyniku podwyższenia pH moczu przez amoniak, będący produktem rozkładu mocznika przez ureazę wytwarzaną przez opisywane bakterie. Wykazano, że jeśli pałeczki rodzaju *Proteus* stanowią istotny składnik mikrobioty jelitowej pacjenta,

biofilm na powierzchni cewnika umieszczonego w pęcherzu moczowym zaczyna tworzyć się już w kilka minut po jego wprowadzeniu do dróg moczowych. W ciągu kilku dni może to doprowadzić do zamknięcia jego światła a proces intensywnej inkrustacji cewników wprowadzonych do pęcherza moczowego jest częstym zjawiskiem i dotyczy nawet 50% pacjentów długotrwale cewnikowanych . U większości chorych długotrwale cewnikowanych, u których stwierdzono bakteriurię o etiologii *Proteus spp.*, występują kamienie moczowe . W ich wewnętrznych strukturach, chronione przed działaniem antybiotyków, znajdują się komórki bakteryjne, odpowiedzialne za nawracający charakter zakażeń umiejscowionych w układzie moczowym. Badania Mathur i wsp. wskazują, że proces inkrustacji cewników jest zależny od pH moczu. Aktywność ureazy pałeczek *P. mirabilis* obecnych na powierzchni cewnika wprowadzonego do pęcherza moczowego prowadzi do wzrostu pH moczu do wartości około 8,0. Wykazano, że zmiana pH moczu ogranicza inkrustację cewników . Proces ten w przypadku pałeczek *P. mirabilis* jest zależny od stężenia składników mineralnych w moczu, m.in., jonów Mg^{2+} , Ca^{2+} lub fosforanów . Kliniczne znaczenie biofilmu, jako czynnika ryzyka rozwoju lub utrzymywania się i nawrotów zakażenia, nie jest w dużej mierze określone. Jest to wynikiem rozbieżności pomiędzy naukowcami, którzy badają sam biofilm a klinicystami, którzy często nie znają lub nie doceniają jego roli w patogenezie chorób człowieka. Dowodem na to mogą być chociażby wyniki wyszukiwania tytułów publikacji w bazie PubMed na dzień 18.10.2022 roku z zakresu badań dotyczących biofilmu (21 700), czynników ryzyka (26 804) oraz obu tych zagadnień badanych razem (8 wyników). Dotychczas nie opracowano skuteczniejszej metody eradykacji biofilmu *in situ*. Najpewniejszą metodą trwałego pozbycia się biofilmu z powierzchni biomateriału, jest jego usunięcie podczas zabiegu lub operacji, choć może on oderwać się i rozwinąć zakażenie o innym umiejscowieniu lub doprowadzić do uogólnienia procesu chorobowego. Stosuje się również nieliczne antybiotyki o potencjalnych właściwościach przeciwbiofilmowych (rifamycyny, gentamicyna) lub też biomateriały ze specjalnymi powłokami ograniczającymi przyleganie drobnoustrojów .

Cel naukowo-badawczy

W pracy badawczej Habilitantka skupiła się na ocenie zdolności pałeczek rodzaju *Proteus* do tworzenia biofilmu, jak i do sposobów ograniczenia formowania tej struktury przez dostępne leki przeciwdrobnoustrojowe oraz substancje pochodzenia naturalnego, np. miody czy witaminy. Są to związki, które mają udowodnione działanie

wobec komórek planktonicznych i są powszechnie dostępne. Ocena ich działania przeciwbiofilmowego jest istotnym zagadnieniem w kontekście współczesnych wyzwań w leczeniu zakażeń.

W przedstawionym cyklu prac Pani doktor wyróżniła dwa podstawowe kierunki badań:

A. ocena wpływu sub-inhibicyjnych stężeń cefalosporyn, aminoglikozydów i fluorochinolonów oraz ich połączeń z antyoksydantami na zdolność tworzenia biofilmu przez szczepy *Proteus spp.*,

B. ocena wpływu produktów naturalnych pochodzenia pszczelego na ograniczenie tworzenia biofilmu przez pałeczki *P. mirabilis* izolowane z zakażeń ran przewlekłych.

Omówienie wyników badań

Głównym kierunkiem badań Habilitantki był biofilm tworzony przez pałeczki rodzaju *Proteus*. Bakterie tego rodzaju mają istotne znaczenie w etiologii ZUM u pacjentów z cewnikiem wprowadzonym do pęcherza moczowego, jak również w kolonizacji i w zakażeniach ran przewlekłych. Obie postaci tych zakażeń najczęściej przebiegają z udziałem biofilmu. Z tego powodu szczepy *Proteus spp.*, wykorzystywane w badaniach stanowiących niniejszy cykl, pochodzą z moczu oraz z wymazów z ran przewlekłych pobieranych od pacjentów z rozpoznaniem, odpowiednio: ZUM lub niegojącym się zakażeniem skóry/tkanki podskórnej.

A. Ocena wpływu sub-inhibicyjnych stężeń cefalosporyn, aminoglikozydów i fluorochinolonów oraz ich połączeń z antyoksydantami na zdolność tworzenia biofilmu przez pałeczki *Proteus spp.*

Wyniki badań zostały opublikowane w 3 publikacjach

H1: Kwiecińska-Piróg J, Skowron K, Zniszczol K, Gospodarek E (2013): The assessment of *Proteus mirabilis* susceptibility to ceftazidime and ciprofloxacin and the impact of these antibiotics at subinhibitory concentrations on *Proteus mirabilis* biofilms. *BioMed Res Int* 2013: 930876, doi:10.1155/2013/930876; IF 2,706, MEiN 30

Badaniem objęto 50 szczepów pałeczek z gatunku *P. mirabilis* izolowanych z moczu (25; 50,0%) i ran przewlekłych (25; 50,0%) chorych leczonych w Szpitalu Uniwersyteckim w Bydgoszczy (SU1). Każdy szczep wyosobniono od innego chorego. Wrażliwość szczepów na ceftazydym (Sigma Aldrich) i ciprofloksacynę

(Sigma Aldrich) określano metodą mikrorozcieńczeń w podłożu płynnym zgodnie z metodologią Instytutu Standardów Klinicznych i Laboratoryjnych (ang. the Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) . Oceniono obecność u badanych szczepów Dr n. med. Joanna Kwiecińska-Piróg 13 beta-laktamaz o rozszerzonym zakresie substratowym (ang. extended spectrum beta-lactamases, ESBL) metodą synergizmu dwóch krążków (ang. double disc synergy test, DDST). Według aktualnych wówczas kryteriów interpretacji wartości minimalnego stężenia hamującego wzrost (ang. minimal inhibitory concentration, MIC) ustalonych przez Europejski Komitet Oznaczenia Antybiotyko-wrażliwości Drobnoustrojów (ang. the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, EUCAST) , wrażliwość na ceftazydym stwierdzono u 32 (64,0%) badanych szczepów, a na ciprofloksacynę – u 20 (51,3%). Zastosowanie metody DDST pozwoliło wykazać obecność ESBL u 11 (22,0%) szczepów. W pierwszym etapie badań nad biofilmem oceniano masę biofilmu tworzonego przez badane szczepy stosując metodę wybarwiania komórek drobnoustrojów i macierzy zewnątrzkomórkowej fioletem krystalicznym. Biofilm *P. mirabilis* został utworzony w studzienkach 96-dółkowej płytki polistyrenowej (Profilab). Na podstawie uzyskanych wyników pomiaru absorbancji przy długości fali 470 nm zaszeregowano szczepy do kategorii: słabo, umiarkowanie i silnie tworzących biofilm. Wpływ ceftazydymu i ciprofloksacyny był oceniany względem 12- i 24-godzinne biofilmu utworzonego w studzienkach 96-dółkowych płytkach polistyrenowych (Profilab), który poddawano działaniu antybiotyków w stężeniach 1 /8 MIC, 1 /4 MIC, 1 /2 MIC i 1 MIC. Porównując wartości absorbancji dostrzeżono, że ciprofloksacyna skuteczniej eradykuje 24- godzinny biofilm *P. mirabilis* niż ceftazydym, a uzyskane różnice w wartościach absorbancji są istotne statystycznie

H2: Kwiecińska-Piróg J, Skowron K, Bartczak W, Gospodarek-Komkowska E (2016): The ciprofloxacin impact on biofilm formation by *Proteus mirabilis* and *P. vulgaris* strains. *Jundashapur J Microbiol*, 9 (4): e32656, doi: 10.5812/jjm.32656; IF 1,017, MEiN 15

W pracy tej badano po 20 szczepów klinicznych z gatunków *P. mirabilis* i *P. vulgaris* izolowanych od różnych pacjentów SU1, oceniając aktywność

metaboliczną tworzonego przez nie biofilmu poddawanego działaniu ciprofloksacyny. Szczególnie istotne jest włączenie do puli szczepów badanych pałeczek z gatunku *P. vulgaris*. Jest to zdecydowanie słabiej niż *P. mirabilis* poznany gatunek tego rodzaju, mający również wiele czynników wirulencji. Publikacja H2 jest jedną z nielicznych na świecie, w której przedstawiono wyniki badań w zakresie oceny tworzenia biofilmu przez szczepy gatunku *P. vulgaris*. Wartością dodaną tej publikacji jest analiza wrażliwości komórek planktonicznych szczepów *P. vulgaris* na ciprofloksacynę. Na podstawie uzyskanych wyników absorbancji oceniano wartości MBEC50 i MBEC90 ciprofloksacyny i porównywano je z wartościami MIC50 i MIC90 tego leku uzyskanymi dla komórek planktonicznych. Wartości MBEC50 są 16-krotnie wyższe niż wartości MIC50 dla szczepów obu gatunków, zaś wartości MBEC90 są 512 razy wyższe niż wartości MIC90 dla szczepów *P. mirabilis* i 128 razy wyższe dla *P. vulgaris*. Niewielkie różnice w wartościach MBEC50 i MIC50 potwierdzają, że ciprofloksacyna wydaje się być skuteczna w eradykacji biofilmów *Proteus spp.*

H3: Kwiecińska-Piróg J, Skowron K, Bogiel T, Białucha A, Przekwas J, Gospodarek-Komkowska E (2019): Vitamin C in the presence of sub-inhibitory concentration of aminoglycosides and fluoroquinolones alters *Proteus mirabilis* biofilm inhibitory rate. *Antibiotics (Basel)* 11; 8 (3): 116; doi: 10.3390/antibiotics8030116; IF 3,983, MEiN 70

W publikacji H3 przedstawiono wyniki dotyczące wpływu sub-inhibicyjnych stężeń dwóch aminoglikozydów (gentamicyny i amikacyny) i trzech fluorochinolonów (norfloksacyny, ciprofloksacyny i lewofloksacyny) oraz witaminy C na tworzenie biofilmu przez szczepy *P. mirabilis*. Do badań zostały włączone cztery szczepy izolowane od pacjentów z objawami ZUM leczonych w klinikach SU1, którzy byli poddawani długotrwałemu cewnikowaniu pęcherza moczowego. W pierwszym etapie badań oceniano wartość MIC badanych antybiotyków oraz kwasu askorbinowego wykorzystując metodę referencyjną, tj. metodę mikrorozcieńczeń w podłożu płynnym, wykonaną zgodnie z zaleceniami CLSI. Aminoglikozydy i fluorochinolony wybrano ze względu na ich częste

stosowanie w leczeniu ZUM, zarówno w lecznictwie zamkniętym, jak i w pozaszpitalnym (fluorochinolony).

B. Ocena wpływu produktów naturalnych pochodzenia pszczelego na ograniczenie tworzenia biofilmu przez pałeczki *Proteus mirabilis* izolowane z zakażeń ran przewlekłych

Wyniki badań zostały opublikowane w 2 pracach:

H4: Kwiecińska-Piróg J, Przekwas J, Majkut M, Skowron K, Gospodarek-Komkowska E (2020): Biofilm formation reducing properties of Manuka honey and propolis in *Proteus mirabilis* rods isolated Dr n. med. Joanna Kwiecińska-Piróg 5 from chronic wounds. *Microorganisms* 19; 8 (11): 1823, doi: 10.3390/microorganisms8111823; IF 4,128, MEiN 20

Do badań wybrano 31 szczepów *P. mirabilis* izolowanych z zakażeń ran przewlekłych pacjentów SU1. Na potrzeby pracy wykonano analizę epidemiologiczną zakażeń ran przewlekłych pacjentów leczonych w latach 2016 – 2018. Na podstawie uzyskanych wyników można wnioskować, że zarówno miód Manuka, jak i EEP mogą być stosowane miejscowo w rozcieńczeniach zachowując właściwości przeciwbiofilmowe. Jest to istotne z punktu widzenia potencjalnego zastosowania klinicznego badanych produktów. W praktyce substancje te często stosuje w postaci roztworów, a więc ich stężenia są niższe niż w produktach wyjściowych.

H5: Kwiecińska-Piróg J, Skowron K, Śniegowska A, Przekwas J, Balcerek M, Załuski D, Gospodarek-Komkowska E (2019): The impact of ethanol extract of propolis on biofilm forming by *Proteus mirabilis* strains isolated from chronic wounds infections. *Nat Prod Res* 33 (22): 3293-3297, doi: 10.1080/14786419.2018.1470513; IF 2,158, MEiN 70

W publikacji H5 przedstawiono wyniki oceny wpływu EEP na biofilm szczepów *P. mirabilis* w odniesieniu do antyseptyków powszechnie stosowanych w pielęgnacji ran przewlekłych. Właściwości przeciwbiofilmowe EEP porównano z działaniem dwóch lawaseptyków stosowanych w pielęgnacji ran przewlekłych: Prontosanu® (B. Braun Melsungen AG) i Octeniseptu® (Schülke & Mayr

GmbH). Substancjami aktywnymi w Prontosanie® jest betaina i poliheksanidyna, a w Octeniseptic® – chlorowodorek oktenidyny. Oba te związki należą do grupy substancji, którym przypisuje się działanie przeciwbiofilmowe. Na podstawie wyników w nich przedstawionych wyciągnięto wniosek, że flawonoidy przyspieszają gojenie się ran, wpływając na procesy angiogenezy i stres oksydacyjny.

Podsumowanie wyników i ich potencjalne wykorzystanie

Przeprowadzone przez Habilitantkę badania pozwoliły wykazać, że pałeczki rodzaju *Proteus* intensywnie tworzą biofilm, ma to istotne znaczenie w zrozumieniu patogenezы zakażeń z udziałem tych bakterii i w podejmowaniu racjonalnych decyzji terapeutycznych. Leczenie zakażeń, w których czynnikiem etiologicznym jest *Proteus spp.* musi koncentrować się na eradykacji nie tylko form planktonicznych komórek bakteryjnych, ale przede wszystkim na ograniczaniu tworzenia przez te bakterie struktury biofilmu. W swoich badaniach Habilitantka wykazała, że stosowanie antybiotyków z różnych grup chemicznych (cefalosporyn III generacji, fluorochinolonów) może być skuteczne w hamowaniu tworzenia biofilmu *Proteus spp.* w zależności od stopnia jego dojrzałości. Ciprofloksacyna wykazuje większą aktywność niż ceftazydim wobec biofilmu dojrzałego. Uzyskane wyniki są istotne z klinicznego punktu widzenia, gdyż mogą stanowić wskazówkę przy doborze antybiotykoterapii w zależności od tego, czy mają działać profilaktycznie, hamując tworzenie biofilmu, czy leczniczo – eradykując biofilm już utworzony.

INFORMACJA O OSIĄGNIĘCIACH DYDAKTYCZNYCH, ORGANIZACYJNYCH ORAZ POPULARYZUJĄCYCH NAUKĘ LUB SZTUKĘ

Habilitantka od 2008 jest nauczycielem akademickim na Wydziale Farmaceutycznym (analitka medyczna, farmacja, kosmetologia), Lekarskim (lekarski, biotechnologia medyczna) oraz Nauk o Zdrowiu (pielęgniarstwo, ratownictwo medyczne, położnictwo). Realizuje zajęcia także ze studentami studiów anglojęzycznych (lekarski, pielęgniarstwo) CM UMK oraz ze studentami w ramach programu ERASMUS (pielęgniarstwo). Prowadzi różne formy zajęć (seminaria, laboratoria i ćwiczenia) z przedmiotów: mikrobiologia, mikrobiologia ogólna, diagnostyka mikrobiologiczna, praktyczna nauka zawodu, wykłady fakultatywne dotyczące diagnostyki

mikrobiologicznej i interpretacji wyników badań mikrobiologicznych dotyczących przypadków klinicznych. W 2015 roku otrzymała wyróżnienie przyznane przez studentów dla nauczyciela akademickiego ze średnią ocen powyżej 4,95. Co roku średnia moich ocen za zajęcia dydaktyczne wynosi powyżej 4,80.

Osiągnięcia organizacyjne

Pani Doktor realizuje działalność organizacyjną zarówno na studiach dyplomowych, jak i podyplomowych prowadzonych przez Wydział Farmaceutyczny CM UMK. Od 2019 roku jest powołana przez Dziekana Wydziału Farmaceutycznego CM UMK do kierowania i nadzorowania zawodowych praktyk studentów kierunku analityka medyczna naszej Uczelni na terenie Polski.

W latach 2019 – 2021 pełniła funkcję opiekuna studentów I roku kierunku analityka medyczna. Obecnie jest powołana do pełnienia tej funkcji w roku akademickim 2022/2023.

Od lutego 2021 roku pełni funkcję Pełnomocnika Rektora ds. specjalizacji dla diagnostów laboratoryjnych w CM UMK. Wraz z członkami Zespołu doradczego Rektora uzyskaliśmy akredytację do prowadzenia szkolenia specjalizacyjnego w dwóch dziedzinach, tj. laboratoryjnej diagnostyki medycznej i mikrobiologii medycznej.

Do pozadydaktycznej działalności organizacyjnej Habilitantki należy zaliczyć udział w komitetach organizacyjnych:

1. Konferencji międzynarodowej, pt. „The last word belongs to microbes – celebrating the 200th anniversary of the birth of Louis Pasteur”, Warszawa, 29-30 XI 2022 r.
2. Pięciu konferencji o zasięgu ogólnopolskim, tj.: ▪ I Konferencja Ogólnopolska „Drobnoustroje w świecie człowieka - drobnoustroje oportunistyczne”, Bydgoszcz, 18-20 IX 2014,
3. Ogólnopolska Konferencja Naukowa „Działania przeciwdrobnoustrojowe. Drobnoustroje – wpływ czynników fizycznych i chemicznych”, Bydgoszcz, 24 VI 2015 (sekretarz komitetu organizacyjnego),

4. II Ogólnopolska Konferencja „Drobnoustroje w świecie człowieka - drobnoustroje oportunistyczne”, Bydgoszcz, 20-21 V 2016, ▪ XXVIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów, Bydgoszcz, 25-27 IX 2016,
5. III Ogólnopolska Konferencja ”Drobnoustroje w świecie człowieka - drobnoustroje oportunistyczne”, Bydgoszcz, 18-19 VI 2018.

W latach 2019 - 2020 była edytorem pomocniczym w numerze specjalnym czasopisma MDPI Microorganisms, pt. "Bacterial biofilms and its eradication in food industry" (CE1). Obecnie pełni funkcję pomocniczego edytora w czasopiśmie MDPI Antibiotics, w numerze specjalnym, pt. „Antimicrobial resistance along the food chain: are we what we eat?" (CE2)

Współpraca z gospodarką

Od kilku lat Habilitantka współpracuje z otoczeniem gospodarczym w zakresie badań mikrobiologicznych.

Dotyczą one głównie nowych technologii, które mają potencjalne zastosowanie przeciwdrobnoustrojowe. Jest autorem lub współautorem 17 ekspertyz / raportów z badań zrealizowanych dla firm z terenu Polski

Ocena rozprawy habilitacyjnej

Podstawą oceny rozprawy „Aktywność substancji pochodzenia naturalnego i antybiotyków wobec biofilmu pałeczek *Proteus spp.*” jest spójny tematycznie cykl 5 publikacji naukowych (prac badawczych/oryginalnych). Praca habilitacyjna Pani Doktor rozszerza wiedzę na temat biofilmu jako wyzwania dla nauk medycznych. Jej prace mają charakter nowatorski, uzyskane wyniki są opublikowane w literaturze o światowym zasięgu i mają znaczenie globalne. Wiedza taka przyczyni się do opracowania skutecznych terapii i walki z problemem tworzenia biofilmów przez odporne drobnoustroje.

Celem przedstawionego cyklu prac wchodzącego w skład osiągnięcia naukowego w postępowaniu habilitacyjnym było ocena aktywności substancji pochodzenia naturalnego i antybiotyków wobec biofilmu pałeczek *Proteus spp.*, określenie możliwości aplikacyjnych w leczeniu oraz poszerzenie wiedzy na temat biofilmu tworzonego przez pałeczki z rodzaju *Proteus* i metod jego eradykacji.

Otrzymane przez Habilitantkę wyniki pozwoliły pogłębić wiedzę na temat zagrożenia pałeczkami *Proteus spp.* u hospitalizowanych pacjentów i potwierdziły, że bakterie te stanowią poważny problem terapeutyczny, z którym wiąże się zagrożenie zdrowia.

Osiągnięcie naukowe zostało udokumentowane cyklem 5 prac opublikowanych w latach 2013-2020 w czasopismach ujętych w bazach: Journal Citation Reports (JCR), Web of Science i Scopus. We wszystkich wymienionych pracach jestem pierwszym autorem. Łączny współczynnik Impact Factor cyklu tych prac wynosi IF 13,992, a wartość punktacji MEiN - 205.

Wniosek końcowy

Stwierdzam, że wskazane przez Habilitantkę osiągnięcie naukowe, a także dotychczasowy całkowity dorobek naukowy, dorobek dydaktyczny i organizacyjny spełniają kryteria określone w art. 16 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (DZ. U. 2016 POZ. 882 ZE ZM. W DZ. U. 2016 POZ. 1311)

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
KATEDRA I ZAKŁAD MIKROBIOLOGII
FARMACEUTYCZNEJ I PARAZYTOLOGII
kierownik
prof. dr hab. n. med. Marzenna Bartoszewicz