



**WYDZIAŁ BIOLOGII
i OCHRONY
ŚRODOWISKA**

Uniwersytet Łódzki

Lztekarnat
Wydziału Wojskowo-Lekarskiego
wpłynęło dn. 2019-03-12
podpis AJ l.dz. 391

Łódź, 10 marca 2019 r.

Dr hab. Mirosława Słaba, prof. UŁ
Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska
Uniwersytet Łódzki

**Recenzja rozprawy doktorskiej
lek. med. Michała Dąbrowskiego
pt: „Ocena lekooporności oraz wrażliwości na
wybrane olejki eteryczne szczepów *Escherichia coli*
uzyskanych od pacjentów z przewlekłym zakażeniem
układu moczowego”**

Rozprawa doktorska autorstwa lek. med. Michała Dąbrowskiego została wykonana pod kierunkiem dr. hab. Moniki Sienkiewicz na Wydziale Wojskowo-Lekarskim Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Dysertacja ta ma strukturę typową dla prac o charakterze eksperymentalnym. Zawiera 88 stron, w tym obszerny wstęp, jasno sprecyzowane cele pracy, materiały, metody, wyniki, analizę statystyczną wyników, omówienie i dyskusję, wnioski i streszczenie w języku polskim i angielskim. Dodatkowo do pracy dołączona została kopia zgody uczelnianej Komisji Bioetycznej na prowadzenie badań opisanych w pracy. Piśmiennictwo obejmuje 170 pozycji literaturowych, prawidłowo dobranych i wykorzystanych.

Podjęty temat badawczy jest ważny i aktualny. Narastająca lekooporność bakterii mobilizuje środowisko naukowe do poszukiwania nowych związków przeciwbakteryjnych, w tym pochodzenia naturalnego. W ten nurt badawczy wpisuje

się tematyka recenzowanej pracy. Doktorant podjął się oceny wrażliwości 70 izolatów klinicznych *Escherichia coli* pochodzących od pacjentów z nawracającymi zakażeniami układu moczowego na olejek goździkowy z pąków, eugenol czyli główny składnik aktywny tego olejku oraz olejek z rumianu rzymskiego

We wstępie Doktorant wyczerpująco opisał zagadnienia związane z prezentowanym tematem. Przedstawił definicję i klasyfikacje zakażeń układu moczowego oraz obraz kliniczny i diagnostykę ZUM. Dostarczył niezbędnych informacji na temat epidemiologii i etiologii ZUM, z których wynika, że bakterie *E. coli* są najczęstszą przyczyną zarówno niepowikłanych jak i powikłanych ZUM, co w pełni uzasadnia wybór modelu badawczego. Duża część wstępu jest poświęcona leczeniu i profilaktyce ZUM. Autor przedstawił również problem narastającej antybiotykooporności i wyjaśnił mechanizmy powstawania oporności na antybiotyki. Następnie Doktorant opisał metody badania aktywności olejków eterycznych. W podrozdziale tym uwzględnił różne parametry, które należy brać pod uwagę przy wyborze metody oceniającej aktywność olejku, co świadczy o tym, że dobrze zna prezentowany temat. Ostatnia część wstępu charakteryzuje właściwości przeciwbakteryjne olejków eterycznych, ze szczególnym uwzględnieniem olejku goździkowego z pąków i olejku z rumianu rzymskiego.

W części materiały Doktorant przedstawił krótką charakterystykę badanych szczepów klinicznych *E. coli* oraz szczepu wzorcowego, pochodzenie i stężenie krążków antybiotykowych oraz pochodzenie i skład chemiczny badanych olejków eterycznych. Metody użyte w pracy są opisane w sposób precyzyjny. W przypadku powszechnie znanej i stosowanej oceny lekowrażliwości szczepów bakteryjnych metodą dyfuzyjno-krążkową zastosowano odnośnik do źródła czyli zgodnie z zaleceniami EUCAST.

Zastosowane metody, choć proste i nieskomplikowane, w połączeniu z dobrze dobraną analizą statystyczną pozwoliły na uzyskanie interesujących wyników.

Lek. med. Michał Dąbrowski ocenił wrażliwość 70 szczepów klinicznych *E. coli* na antybiotyki rekomendowane w leczeniu ZUM oraz określił minimalne stężenie hamujące (MIC) i minimalne stężenie bójcze (MBC) olejków goździkowego i z rumianu

rzymskiego dla szczepów klinicznych oraz szczepu wzorcowego ATCC 25922. Za najważniejszy wynik rozprawy uważam wykazanie, że wybrane szczepy *E. coli*, charakteryzujące się najmniejszą wrażliwością na olejek goździkowy są i tak dużo bardziej wrażliwe na ten olejek oraz eugenol niż na popularnie stosowane antybiotyki (amoksycylina z kwasem klawulonowym, ampicylina i cefuroksym). Ponadto na podstawie przeprowadzonych badań z użyciem metody szachownicy, wykazano, że połączenie wybranych antybiotyków z olejkiem goździkowym lub eugenolem nie zwiększyło ich efektywności przeciwbakteryjnej, ale co najważniejsze, nie odnotowano również oddziaływania antagonistycznego. Tworzenie biofilmów przez uropatogenne szczepy *E. coli* znacznie utrudnia leczenie ZUM. Doktorant ocenił zdolność wybranych izolatów do wytwarzania biofilmów oraz wpływ rekomendowanych antybiotyków II rzutu na biomasy biofilmów, co świadczy o szerokim podejściu do badanego problemu naukowego.

Dyskusja jest zwarta, napisana dobrym językiem naukowym i stanowi omówienie uzyskanych wyników i ich konfrontacje z danymi literaturowymi. Brakuje w niej tylko odniesienia do ciekawego wyniku, ujętego w dalszej części wniosku nr 2 „*Co więcej, w niektórych przypadkach zaobserwowano znaczny wzrost produkcji biomasy biofilmów w obecności antybiotyku.*” Czy Doktorant mógłby wyjaśnić ten efekt podczas publicznej obrony?

Wnioski rozprawy doktorskiej są dobrze sprecyzowane i w pełni uzasadnione.

Ze względu na silne właściwości przeciwbakteryjne oraz co ważne, brak oddziaływania antagonistycznego z powszechnie stosowanymi antybiotykami Autor rozprawy wskazuje na olejek goździkowy i jego główny składnik aktywny (eugenol) podawany w formie kapsułek jako możliwy dodatek wspierający leczenie ZUM. Jak wynika ze wstępu, olejek ten jest bezpieczny w użyciu, a jego dzienna dopuszczalna dawka ustalona przez WHO wynosi 2,5 mg/kg masy ciała. Tu mam pytanie do Doktoranta: czy w literaturze opisano wpływ olejku goździkowego lub ugenolu na mikrobiom przewodu pokarmowego człowieka?

Dysertacja jest napisana poprawnym językiem. Zawiera 14 tabel i 6 rycin. Autor nie ustrzegł się drobnych błędów, a mianowicie:

- Modelem badawczym pracy są bakterie *Escherichia coli* i ta nazwa gatunkowa występuje w pracy wiele razy. Trzeba wprowadzić porządek: pełna nazwa na początku, potem skrót *E. coli*, natomiast w pracy jest całkowita dowolność tzn. skrót, pełna nazwa, skrót - na jednej stronie np. na str. 62, 63.
- Należy uporządkować występujące w pracy liczne skróty. Nie zawsze są wyjaśnione przy pierwszym użyciu np. str. 6 UPEC (uropatogenne szczepy *E. coli*, wyjaśnienie skrótu jest podane przy drugim użyciu skrótu na tej stronie. Niektóre skróty są objaśnione tylko w wykazie skrótów.
- W pracy zdarzają się błędy literowe, szczególnie w nazwach łacińskich drobnoustrojów np. w Tabeli 1 są błędy literowe w nazwach *Escherichia coli*, *Citrobacter spp.* i *Staphylococcus saprophyticus*
- We wstępie nie ma żadnych rycin, a na stronie 20 wstępu jest odnośnik do ryciny 1.
- Metody, p. 4.2 proszę uściślić ile godzin trwa nocna hodowla.
- Przydałoby się ujednoczyć grafikę tabel, np. tabela 1, a tabela 4 czy tabela 6.

WNIOSEK KOŃCOWY

Stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa spełnia wszystkie wymagania stawiane pracom doktorskim i jest oryginalnym rozwiązaniem przedstawionego problemu badawczego. Wniosuję zatem do Wysokiej Rady Wydziału Wojskowo-Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie lekarza medycyny Michała Dąbrowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dr hab. Mirosława Słaba, prof. UŁ

