



Bydgoszcz, 10 stycznia 2023

Dr hab. inż. Aleksandra Dunisławska, prof. PBŚ
Katedra Biotechnologii i Genetyki Zwierząt
Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt
Politechnika Bydgoska im. J. J. Śniadeckich

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr inż. Darii Ciecholewskiej-Juśko

pt. „Opracowanie i charakterystyka materiałów bionanocelulozowych do zapobiegania kolonizacji przez drobnoustroje patogenne oraz do eradykacji biofilmów bakteryjnych”

Podstawą przygotowania recenzji jest pismo dr hab. inż. Arkadiusza Pietruszki, prof. ZUT - Dziekana Wydziału Biotechnologii i Hodowli Zwierząt Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie z dnia 10. listopada 2021 roku (WBiHZ/160/2022).

Praca doktorska Pani mgr inż. Darii Ciecholewskiej-Juśko została wykonana w Katedrze Mikrobiologii i Biotechnologii Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie pod kierunkiem dr hab. inż. Karola Fijałkowskiego, prof. ZUT.

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska składa się z czterech opublikowanych i powiązanych ze sobą tematycznie artykułów naukowych, które ukazały się w latach 2021-2022. Wszystkie prace cyklu publikacyjnego stanowią oryginalne prace twórcze opublikowane w renomowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym, a tym samym przeszły staranną weryfikację redakcyjną – formalną oraz merytoryczną. Łączna wartość wskaźnika **Impact Factor** prac przedstawionych w cyklu wynosi **25,099**, a **liczba punktów zgodnie z wykazem czasopism naukowych Ministerstwa Edukacji i Nauki** za rok ukazania się wynosi **520**. We wszystkich pracach

Doktorantka jest pierwszym autorem. Deklarowany wkład Pani mgr inż. Ciecholewskiej-Juśko w powstanie prac jest wiodący, a na podkreślenie zasługuje udział Doktorantki w opracowaniu koncepcji oraz metodyk badawczych, udział we wszystkich etapach eksperymentu, a także przygotowaniu manuskryptu. Świadczy to o dużej dojrzałości naukowej oraz samodzielności w organizacji warsztatu badawczego.

Oceny dokonano na podstawie egzemplarza rozprawy doktorskiej z załączonymi czterema bogatoilustrowanymi anglojęzycznymi kopiami artykułów naukowych, będącymi podstawą ocenianej pracy. Rozprawa składa się z autoreferatu stanowiącego syntezę wyżej wspomnianych publikacji oraz z załączników. Na autoreferat składają się 44 strony, podzielone na 8 rozdziałów: wprowadzenie, hipotezy, cel badawczy, materiały i metody badawcze, wyniki wnioski, literatura oraz omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr inż. Darii Ciecholewskiej-Juśko stanowi oryginalne rozwiązanie w zakresie opracowania i charakterystyki materiałów bionanocelulozowych do zapobiegania kolonizacji przez drobnoustroje patogenne oraz do eradykacji biofilmów bakteryjnych. Jak powszechnie wiadomo biofilm, czyli zbiór drobnoustrojów charakteryzuje się dużą odpornością na działania zwalczające, co stanowi ogromny problem w procesie leczenia ran zarówno w medycynie ludzkiej, jak i weterynaryjnej. Przez ograniczoną podatność na traktowanie bakteriobójcze oraz dużą lekooporność jego zwalczanie jest procesem trudnym i uciążliwym. Rutynowo stosowane terapie łączone zwalczania biofilmu przez chirurgiczne opracowywanie rany oraz stosowanie antybiotykoterapii są długotrwałe oraz zagrażające życiu pacjentów. Opracowanie nowych materiałów zwalczania biofilmów oraz naturalnych terapii przeciwbiofilmowych stanowi ogromne wyzwanie na współczesnej nauce. Jest to proces karkołomny z uwagi na samą specyfikę zbiorowiska bakteryjnego, ale i również na konieczność stosowania odpowiednich substancji i materiałów z uwagi na bliski kontakt ze skórą i krwią pacjenta. Jednym ze stosowanych materiałów w tym celu jest celuloza bakteryjna z uwagi na swoje specyficzne właściwości oraz strukturę. W celu zwiększenia jej potencjału realizowany jest szereg badań w zakresie modyfikacji zarówno *in situ*, jak i *ex situ*. Istotny parametr stanowi również możliwość kontrolowanego uwalniania substancji przeciwdrobnoustrojowych do rany. Dzięki stosunkowo prostemu procesowi wytwarzania i oczyszczania, a także możliwości wprowadzania modyfikacji, celuloza bakteryjna jest szczególnie obiecującym nanomateriałem w kontekście produktów opatrunkowych oraz procesu gojenia ran. Największe wyzwanie stanowią

jednak koszty produkcji, które związane są z przede wszystkim ze składnikami pożywki produkcyjnej.

Doktorantka w swojej pracy postawiła siedem hipotez, a podstawowym celem podjętych działań badawczych było opracowanie materiałów bionanocelulozowych do zapobiegania kolonizacji przez drobnoustroje patogenne oraz eradykacji biofilmów bakteryjnych.

Celem badań opisanych w **publikacji nr 1** było dobranie katalizatorów reakcji krzyżowego sieciowania, które podczas rozkładu termicznego i w reakcjach z kwasami wydzielają duże ilości nieszkodliwych gazów, a także modyfikacja metody modyfikacji celulozy bakteryjnej za pomocą reakcji krzyżowego sieciowania w celu uzyskania materiałów charakteryzujących się zwiększoną zdolnością do pochłaniania i utrzymania cieczy przy jednoczesnym zachowaniu nietoksyczności. Doktorantka w wyżej wymienionej pracy stawia sobie za wyzwanie opracowanie metody modyfikacji, pozwalającej na połączenie korzyści ze stosowania mokrej i suchej celulozy bakteryjnej. W tym celu zastosowano reakcję krzyżowego sieciowania w wysokiej temperaturze przy optymalizacji procesu z wykorzystaniem siedmiu różnych katalizatorów. Otrzymane wyniki sugerują, że opracowana metoda modyfikacji celulozy bakteryjnej może przyczynić się do rozwoju wysokochłonnych materiałów opatrunkowych. Ogromny potencjał aplikacyjny otrzymanych wyników potwierdza również patent, którego pierwszym autorem jest Doktorantka.

Główny cel **publikacji nr 2** stanowiła ocena możliwości zastosowania soku komórkowego z bulw ziemniaka jako pełnowartościowej pożywki produkcyjnej do wytwarzania celulozy bakteryjnej. Takie rozwiązanie mogłoby ograniczyć kosztochłonność produkcji celulozy. W toku badań opracowano pożywkę produkcyjną, a także przeprowadzono proces optymalizacji z uwzględnieniem otrzymania jak największej ilości celulozy bakteryjnej. Otrzymana pożywka na bazie soku komórkowego z bulw ziemniaka została scharakteryzowana pod względem zawartości cukrów, białek oraz pozostałości skrobi. Warto podkreślić, iż Doktorantka w celu wykazania ekonomicznych korzyści zastosowania takiego rozwiązania przeprowadziła kalkulację, wykazując ogromną różnicę w cenie względem komercyjnie dostępnych pożywek. Wykonane badania pozwoliły uznać, iż sok komórkowy z bulw ziemniaka stanowi odpowiednie źródło składników odżywczych dla bakterii, które syntetyzują celulozę, wpływając na wydajniejszy proces jej produkcji. Również i w przypadku wyżej wspomnianych wyników powstało zgłoszenie patentowe, w którym Doktorantka jest pierwszą autorką.

Celem **publikacji nr 3** była ocena zdolności do pochłaniania sztucznego wysięku przez materiały na bazie celulozy bakteryjnej wytworzonej w odpowiednio modyfikowanej pożywce

z soku komórkowego z bulw ziemniaków, a także ocena kinetyki uwalniania antyseptyku oraz właściwości przeciwdrobnoustrojowych wyżej wspomnianego materiału. Doktorantka potwierdziła użyteczność celulozy bakteryjnej modyfikowanej za pomocą krzyżowego sieciowania, wytworzonej z użyciem pożywki opracowanej w publikacji nr 2 oraz impregnowanej o działaniu przeciwdrobnoustrojowym. Badanie te ukierunkowane były na testowanie potencjalnego materiału opatrunkowego skierowanego przeciwko biofilmom bakteryjnym patogenów oportunistycznym występującym w zakażeniach ran.

Cel **publikacji nr 4** to ocena wpływu wirującego pola magnetycznego na stopień uwalniania antyseptyku z nośnika na bazie celulozy bakteryjnej, a także ocena *in vitro*. Istotą tych badań jest poszukiwanie metod pozwalających sterować procesami zachodzącymi w trakcie stosowania opatrunków przeciwbiofilmowych. Doktorantka dowiodła, że zastosowanie biomateriałów na bazie celulozy bakteryjnej z zastosowaniem impregnowania i wirującego pola magnetycznego może być szczególnie skuteczne w eliminacji biofilmów zlokalizowanych w trudnodostępnych rejonach ran.

Wszystkie uzyskane wyniki zaprezentowano w logicznej kolejności oraz zostały one szczegółowo omówione. Tytuł rozprawy odzwierciedla zagadnienia poruszane w recenzowanym opracowaniu. Informacje zawarte w rozprawie doktorskiej zostały poparte licznym i właściwie dobranym piśmiennictwem świadczącym o bardzo dobrym przygotowaniu merytorycznym Doktorantki. Praca napisana jest poprawnym stylistycznie językiem, a także w sposób zrozumiały i staranny. Z ciekawości własnej, jak i z obowiązków recenzenta chciałabym zapytać o gotowość technologiczną przedstawionych rozwiązań w zakresie opracowywania materiałów bionanocelulozowych oraz możliwości i kierunki dalszej pracy nad tym niezwykle interesującym zagadnieniem.

Rozprawa doktorska Pani mgr inż. Darii Ciecholewskiej-Juško stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Za najważniejszy merytoryczny aspekt pracy można uznać skuteczne poszukiwanie nowych alternatywnych metod pozyskiwania celulozy bakteryjnej do zwalczania biofilmów i opracowania materiałów opatrunkowych w procesie leczenia ran. Należy tu jednoznacznie podkreślić wysoki stopień innowacji z uwagi na przygotowane zgłoszenia patentowe. Na uwagę zasługuje również fakt, że badania Doktorantki wykonane zostały w ramach współpracy interdyscyplinarnej z wieloma naukowcami z różnych dziedzin, a część z nich powstała w ramach realizacji projektu OPUS finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki.

Do pracy dołączono również syntezę pozostałych osiągnięć naukowych Doktorantki z której wnioskować można, iż Pani mgr inż. Daria Ciecholewska-Juśko jest dobrze ukierunkowanym naukowcem. Na uwagę zasługuje spójność tematyczna zadań badawczych oraz konsekwencja w ich realizowaniu. O dużym zaangażowaniu w naukę świadczy imponujący dorobek Doktorantki na który składają się publikacje naukowe o wartości współczynnika Impact Factor równego 63,089, a także 1550 punktów MEiN, jeden patent i trzy zgłoszenia patentowe, udział w trzech projektach naukowych jako wykonawca, a także uczestnictwo w licznych konferencjach naukowych.

Podsumowanie

Na podstawie przeprowadzonych badań uzyskano wartościowe wyniki, a także przeprowadzono wnikliwą i rzeczową dyskusję. Przedstawiona mi do oceny praca doktorska tworzy odpowiednio zaprojektowaną oraz kompleksowo zrealizowaną pracę badawczą. Poruszony problem badawczy jest niezwykle istotny zarówno w aspekcie zdrowia ludzi, jak i zwierząt. Opublikowane artykuły naukowe posiadają bardzo dużą wartość poznawczą, a także szeroki zakres wykonanych badań. Wszystkie publikacje naukowe stanowiące fundament niniejszej pracy są mocno osadzone w literaturze światowej o czym świadczy ich wysoki współczynnik wpływu. Czasopisma w których się ukazały doceniane są również na arenie krajowej, co ma swoje odzwierciedlenie w punktacji przyznanej przez Ministerstwo Edukacji i Nauki.

W świetle przytoczonych argumentów stwierdzam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska pt. **„Opracowanie i charakterystyka materiałów bionanocelulozowych do zapobiegania kolonizacji przez drobnoustroje patogenne oraz do eradykacji biofilmów bakteryjnych”** spełnia wymagania stawianym rozprawom doktorskim zgodnie z *Ustawą o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki* z dnia 14. marca 2003 roku (Dz.U. z 2017r., poz. 1789 ze zm.) w związku z art. 179, ust. 1 Ustawy z dnia 3. lipca 2018 roku przepisy wprowadzające – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 roku, poz. 1669 ze zm.), dlatego też wnoszę o przyjęcie rozprawy doktorskiej i dopuszczenie Pani mgr inż. Darii Ciecholewskiej-Juśko do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Równocześnie z uwagi na wskazane w tej recenzji walory rozprawy doktorskiej, wnioskuję do Senatu Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Darii Ciecholewskiej-Juśko.