

Dr hab. Tamara Aleksandrak-Piekarczyk
Instytut Biochemii i Biofizyki
Polska Akademia Nauk
Pracownia Mikrobiologii Stosowanej
ul. Pawińskiego 5a
02-106 Warszawa
email: tamara@ibb.waw.pl
tel: (+48) 22 592 12 13

**Recenzja rozprawy doktorskiej
mgr inż. Lidii Piekarskiej-Radzik**

**„Aktywność antagonistyczna bakterii kwasu mlekowego i ekstraktów z pseudoowoców
oraz mięszczy *Rosa* spp. – jako bioaktywnych składników żywności w stosunku do
koagulazo-ujemnych szczepów *Staphylococcus* spp.”**

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska zatytułowana „Aktywność antagonistyczna bakterii kwasu mlekowego i ekstraktów z pseudoowoców oraz mięszczy *Rosa* spp. – jako bioaktywnych składników żywności w stosunku do koagulazo-ujemnych szczepów *Staphylococcus* spp.” została wykonana przez Panią mgr inż. Lidię Piekarską-Radzik. Tytuł zawodowy magistra Pani Piekarska-Radzik uzyskała 12 września 2018 roku na Wydziale Biotechnologii i Nauk o Żywności na kierunku biotechnologia Politechniki Łódzkiej. Zgodnie z przedstawioną przez kandydatkę do stopnia doktora informacją, mgr inż. Lidia Piekarską-Radzik nie ubiegała się o nadanie stopnia doktora w latach poprzednich w dyscyplinie Technologia Żywności i Żywienia.

Koagulazo-ujemne gronkowce są częścią normalnej flory ludzkiej skóry i występują również w żywności. Choć zjadliwość tych organizmów jest stosunkowo niska w porównaniu z ich koagulazo-dodatnimi krewniakami z rodzaju *Staphylococcus*, mogą one indukować zatrucia pokarmowe oraz powodować klinicznie istotne zakażenia krwi i innych tkanek. Co więcej obserwuje się znaczny wzrost antybiotykooporności wśród przedstawicieli tej grupy bakterii. W celu ograniczenia gronkowcowej patogenezы konieczny jest rozwój alternatywnych związków o działaniu przeciwbakteryjnym i o nowych mechanizmach działania. Tematem badań Pani mgr inż. Lidii Piekarskiej-Radzik są naturalne

bioaktywne składniki żywności takie jak bakterie kwasu mlekowego i ekstrakty z pseudoowoców róż zarówno pojedynczo, jak i w dwuskładnikowych układach antagonistycznych, analizowane w kierunku ograniczania wzrostu i tworzenia biofilmów koagulazo-ujemnych bakterii z rodzaju *Staphylococcus* wyizolowanych z żywności. Jest to o tyle uzasadnione podejście ponieważ istnieją liczne przesłanki naukowe na przeciwbakteryjne działanie badanych związków, a niektóre z nich już mają zastosowanie jako np. naturalne konserwanty żywności lub probiotyki, w branży spożywczej i kosmetycznej, jak również w medycynie i weterynarii. Mimo tak wielu potencjalnych możliwości aplikacyjnych, takie naturalne bioaktywne związki nie są powszechnie stosowane, co może wynikać m.in. z braku dokładniejszej wiedzy na temat ich identyfikacji i działania.

W zakres powyższych zagadnień naukowych wpisuje się przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska mgr inż. Lidii Piekarskiej-Radzik. Recenzowana praca została wykonana na Wydziale Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechniki Łódzkiej pod kierunkiem Pani prof. dr hab. Elżbiety Klewickiej oraz Promotor pomocniczej Pani dr inż. Joanny Milali. Rozprawa została zredagowana w formie monografii naukowej, która składa się z 9 standardowych rozdziałów przedstawiających: (i) stan wiedzy w obszarze badań, (ii) hipotezę, cel i zakres pracy, (iii) materiały i metody badań, (iv) wyniki, (v) aplikacyjność, (vi) dyskusję wyników, (vii) wnioski i stwierdzenia końcowe, (viii) spis aktualnej literatury oraz (ix) wykaz osiągnięć naukowych. Do rozprawy doktorskiej dołączono również spis treści oraz streszczenia w języku polskim i angielskim. Proporcje i zakres przedstawionych informacji poszczególnych rozdziałów są odpowiednie, jednak całość pracy zamyka się na aż 433 stronach, co moim zdaniem stanowi zbyt obszerne opracowanie i w wielu miejscach tekst mógłby być znacznie zwięźlej przedstawiony przy zachowaniu zasady „minimum słów, maksimum treści” bez żadnego uszczerbku na jakości opisów uzyskanych wyników i ich interpretacji. Jednak, należy tu podkreślić, że Autorka doskonale uniosła ciężar obszernego opracowania - praca została napisana z bardzo dużą starannością, nie znajduję w niej typowych dla tego typu opracowań błędów stylistycznych, edytorskich i żargonu laboratoryjnego. Nie mam również zastrzeżeń do merytorycznych aspektów pracy. W tym względzie, podkreślić należy skrupulatnie przygotowane omówienie pracy w postaci ogólnego wstępu teoretycznego dotyczącego charakterystyki rodzajów *Rosa*, *Staphylococcus*, grupy bakterii kwasu mlekowego oraz polifenoli. Już z tej części wynika, iż przedstawiony w pracy problem badawczy nie jest nowy, bo wiele z przywoływanych przez Doktorantkę artykułów naukowych wskazuje na aktywność antagonistyczną, w tym przeciwgronkowcową, charakteryzowanych w rozprawie ekstraktów roślinnych, polifenoli oraz bakterii kwasu mlekowego i ich produktów. Co więcej, znane i opisane przez Doktorantkę są również przyczyny aktywności przeciwdrobnoustrojowej bakterii kwasu mlekowego i polifenoli, wśród których wyróżnia się m.in. zmiany w przepuszczalności osłon komórkowych bakterii chorobotwórczych, ograniczanie powstawania biofilmów, zaburzenia w adhezji do komórek nabłonkowych.

Cele pracy zostały szczegółowo i przejrzysto sformułowane i dotyczą weryfikacji antagonistycznego wpływu bakterii kwasu mlekowego oraz ekstraktów z róż w stosunku do izolatów *Staphylococcus* spp., zarówno w podejściu eksperymentalnym jak i aplikacyjnym. Pomimo iż, tak jak sygnalizowałam wyżej, postawiony w pracy problem i metoda jego rozwiązania nie zawiera pełnego *novum* w stosunku do obecnej wiedzy, i w wielu aspektach jest obecny w literaturze naukowej, to jednocześnie jest na tyle szeroki, że wiele pytań badawczych z jego zakresu, co trzeba tu wyraźnie podkreślić, jest oryginalnych, ciągle wartych postawienia i rozwiązania. Ponadto należy zaznaczyć, że wyniki uzyskane w rozprawie zostały otrzymane przez Panią Piekarską-Radzik przy użyciu bogatego wachlarza metod z zakresu mikrobiologii, chemii analitycznej, biologii molekularnej, a także statystycznych, co wskazuje na szeroki i doskonały warsztat badawczy Doktorantki.

Uważam, że najważniejsze osiągnięcia badawcze przedstawione w wynikach rozprawy doktorskiej Pani Piekarskiej-Radzik to:

1. Identyfikacja szczepów bakterii kwasu mlekowego o wysokim potencjale antagonistycznym w stosunku do szerokiego zakresu bakterii z rodzaju *Staphylococcus* w tym szczepów referencyjnych *S. aureus* i *S. epidermidis* oraz izolatów środowiskowych i określenie związku tej aktywności z supernatantami pochodzonymi z kultur szczepów bakterii kwasu mlekowego, w których główną przeciwgronkowcową rolę pełnią kwasy organiczne (mlekowy oraz octowy) oraz w nielicznych przypadkach substancje o charakterze białkowym, potencjalnie bakteriocyne. Trzeba zaznaczyć, że określony tu potencjał przeciwgronkowcowy jest jednak cechą wyraźnie szczepowo-specyficzną, rozpatrywaną w układzie producent-indykator, co może prowadzić do ograniczeń w możliwościach aplikacji otrzymanych wyników dotyczących aktywności przeciwdrobnoustrojowych bakterii kwasu mlekowego.
2. Przypisanie wyższej aktywności przeciwgronkowcowej ekstraktom z pseudowoców z róży niż ekstraktom z mięszu oraz wytypowanie spośród innych polifenoli zwiększonej ilości elagotannin jako odpowiedzialnych za ten efekt. Również w tym przypadku aktywności przeciwbakteryjne ekstraktów były szczepozależne.
3. Wskazanie zmian w przepuszczalności błon komórkowych i w autoagregacji komórek gronkowców, zmian w hydrofobowości i właściwości donorowo-akceptorowej ich ścian komórkowych oraz zmian w procesie tworzenia biofilmu na powierzchniach biotycznych i abiotycznych w odpowiedzi na obecność ekstraktów z róż lub supernatantów pochodzących z kultur bakterii kwasu mlekowego. Co ciekawe, wiele z obserwowanych efektów było pozytywnie lub negatywnie skorelowane z obecnością poszczególnych związków o właściwościach antybakteryjnych. Natomiast połączenie obu elementów (podłoża pochodzące plus ekstrakty) dawało niezmiennie pozytywną korelację w

kierunku obniżenia tworzenia gronkowcowych biofilmów, co dobrze rokuje na możliwość wykorzystania potencjału tych związków w układach złożonych.

4. Ocena przydatności technologicznej otrzymanych wyników w podejściu przemysłowego wykorzystania bakterii kwasu mlekowego oraz bogatych w polifenole ekstraktów z *Rosa* spp. W ramach rozprawy Doktorantka opracowała produkt kosmetyczny w tłustej formule na bazie ekstraktów otrzymanych z *Rosa* spp. i udowodniła jego właściwości w znacznym ograniczaniu wzrostu większości gronkowców. W przypadku wszystkich z aż 28 układów dwuskładnikowych (bakterie kwasu mlekowego – ekstrakty bogate w polifenole) mgr inż. Piekarska-Radzik zaobserwowała efektywne hamowanie wzrostu wszystkich testowanych gronkowców, co nie było tak wydajne w przypadku stosowania pojedynczych elementów tego układu. Potwierdza to sugerowaną na wcześniejszych etapach pracy możliwość wykorzystania antagonistycznego potencjału tych związków w układach złożonych.

W związku z tematyką pracy i prezentowanymi wynikami mam kilka zagadnień do przedyskutowania podczas obrony:

1. Polifenole to produkty roślinne, jednak ich izolacja w większych ilościach jest trudna. Pewnym rozwiązaniem mogłaby być ich heterologiczna produkcja w mikroorganizmach. Chciałabym się dowiedzieć jaki jest stan obecny wiedzy odnośnie produkcji polifenoli pochodzenia roślinnego w mikroorganizmach i jakie są perspektywy tego procesu.
2. Polifenole i bakteriocyny wykazują właściwości antagonistyczne wobec bakterii patogennych i mogą stanowić alternatywę dla antybiotyków i chemicznych konserwantów. Czy jednak ich użycie nie będzie prowadzić do narastania oporności na te związki podobnie jak to jest w przypadku standardowych antybiotyków? Chciałabym się dowiedzieć, jaki jest aktualny stan wiedzy na temat badań molekularnych odnośnie mechanizmów rozwoju oporności na bakteriocyny i polifenole, oraz czy mogą występować oporności krzyżowe z antybiotykami?
3. W pracy opracowano preparat kosmetyczny do pielęgnacji ust o właściwościach przeciwegronkowcowych zawierający ekstrakty z *Rosa* spp. Chciałabym się dowiedzieć jakie jest zdanie Doktorantki odnośnie możliwości wystąpienia ryzyka negatywnego wpływu na naturalną mikroflorę skóry takiego produktu o działaniu przeciwbakteryjnym? Czy aktywność użytych ekstraktów była również testowana w kierunku innych bakterii niż gronkowce, w tym bakterii stanowiących zdrową florę bakteryjną skóry? Mogę sobie wyobrazić, że (nad)używanie takiego preparatu kosmetycznego o aktywności przeciwdrobnoustrojowej może prowadzić do zaburzeń mikrobiomu zdrowej skóry i zachwiania jego funkcji ochronnej - proszę o Pani opinię w tej kwestii.

Podsumowując chciałabym podkreślić, iż przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska wnosi dużo informacji odnośnie identyfikacji związków o działaniu przeciwgronkowcowym i charakterystyki efektów ich bójczego działania. Ponadto proponuje aplikacyjne wykorzystanie uzyskanych wyników, co jest sporo wartością dodaną i doskonałym zwieńczeniem badań podstawowych. Trzeba tu również zaznaczyć, że niektóre wyniki prezentowane w rozprawie przeszły już ocenę recenzencką, ponieważ zostały opublikowane w czasopismach naukowych – Doktorantka jest współautorką ośmiu publikacji naukowych (w większości w czasopismach z listy JCR) oraz były przedstawiane na licznych (w sumie 16) konferencjach naukowych głównie w formie wystąpień ustnych (12 prezentacji) lub posterów.

W konkluzji uznaję, iż przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska mgr inż. Lidii Piekarskiej-Radzik w pełni spełnia warunki określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r - Prawo o Szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 z późn. zm.). W związku z tym wnoszę do Wysokiej Rady do Spraw Stopni Naukowych w dyscyplinach nauki chemiczne, inżynieria chemiczna, technologia żywności i żywienia PŁ o dopuszczenie mgr inż. Lidii Piekarskiej-Radzik do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk rolniczych, w dyscyplinie technologia żywności i żywienia. Zwracam się również do Wysokiej Rady do Spraw Stopni Naukowych w dyscyplinach nauki chemiczne, inżynieria chemiczna, technologia żywności i żywienia PŁ z prośbą o rozważenie przyznania stosownego wyróżnienia z uwagi na wysoką wartość merytoryczną pracy.

Warszawa; 22/09/2023



Tamara Aleksandrak-Piekarczyk