



Bydgoszcz, dn. 04.07.2024 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Dominiki Szczerbiec pt. „Wpływ drobnoustrojów z rodzaju *Lactobacillus* izolowanych z moczu na patogenność *Proteus mirabilis* i rozwój infekcyjnej kamicy moczowej” wykonanej pod kierunkiem dr hab. Agnieszki Torzewskiej, prof. UŁ

Podstawę przygotowania recenzji rozprawy doktorskiej mgr Dominiki Szczerbiec zatytułowanej: „Wpływ drobnoustrojów z rodzaju *Lactobacillus* izolowanych z moczu na patogenność *Proteus mirabilis* i rozwój infekcyjnej kamicy moczowej” stanowi pismo z dnia 16.04.2024 r. sygnowane przez prof. dr hab. Agnieszkę Marczak, Przewodniczącą Komisji Uniwersytetu Łódzkiego do spraw stopni naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne, w którym zamieszczono informację o powołaniu mnie decyzją ww. Komisji na recenzenta niniejszej rozprawy doktorskiej.

Tematyka rozprawy doktorskiej mgr Dominiki Szczerbiec wpisuje się w moje zainteresowania naukowo-badawcze, co czyni mnie upoważnioną do przygotowania recenzji.

1. Ocena układu rozprawy doktorskiej

Recenzowana rozprawa doktorska pt. „Wpływ drobnoustrojów z rodzaju *Lactobacillus* izolowanych z moczu na patogenność *Proteus mirabilis* i rozwój infekcyjnej kamicy moczowej” została przygotowana pod kierunkiem promotora, dr hab. Agnieszki Torzewskiej, prof. UŁ z Katedry Biologii Bakterii, Instytutu Mikrobiologii, Biotechnologii i Immunologii w ramach Szkoły Doktorskiej Nauk Ścisłych i Przyrodniczych Uniwersytetu Łódzkiego.

Rozprawa doktorska została przedstawiona w postaci cyklu publikacji uzupełnionych opisem wyników nieopublikowanych. Stanowi zwarte opracowanie naukowe oparte na trzech publikacjach, w których Doktorantka jest pierwszym autorem z wkładem pracy na poziomie co najmniej 60%.

Rozprawa doktorska liczy 134 strony maszynopisu. Treść rozprawy została podzielona na typowe dla tego rodzaju prac sekcje: Wstęp, Cel pracy, Publikacje stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej, Wyniki nieopublikowane, Podsumowanie wyników i wnioski, Dyskusja, Streszczenie w języku polskim i angielskim, Literatura i Oświadczenia współautorów. Całość opracowania poprzedza Wykaz publikacji stanowiących podstawę ubiegania się o stopień doktora, wykaz pozostałych publikacji Autorki, informacja o komunikatachjazdowych z udziałem Doktorantki, informacja o źródłach finansowania badań oraz Wykaz skrótów. Zarówno kompozycja pracy, jak i proporcje jej poszczególnych rozdziałów są prawidłowe.

Załączone tabele i ryciny są prawidłowo skonstruowane i wzbogacają treść rozprawy. Na szczególne uznanie zasługuje aspekt merytoryczny przygotowanych rycin. Treści, które prezentują są bardzo przejrzyste i ułatwiają czytelnikowi odbiór przedstawionych informacji.

Praca napisana jest jasnym, zrozumiałym i naukowym językiem. Wszystko to wskazuje na dobre opanowanie przez Panią Dominikę Szczerbiec zasad przygotowania i redagowania prac naukowych.

Chociaż rozprawa jest napisana prawidłowo, zgodnie ze wszystkimi zasadami redagowania prac naukowych i dostarcza bardzo cennych wyników, to jednak mam kilka uwag, głównie natury redakcyjnej:

- w spisie treści publikacja 2 opisana jest jako publikacja 3;
- w wykazie skrótów rozwinięciem TSB jest nazwa innego podłoża, tj. tryptic soy agar, które jest podłożem stałym, w przeciwieństwie do TSB, które jest podłożem płynnym;
- pojawiają się nazwy rodzin, rodzajów czy gatunków pisane bez kursywy, np. *Morganellaceae* (str. 9, 31);
- brak jest w treści pracy rozwinięcia skrótu CAUTIs (str. 9);
- używany jest w pracy termin posocznica zamiast sepsa (str. 9);
- w treści pracy (str. 10, 17) pojawia się skrót SXT zamiast pełnej nazwy antybiotyku. Wszystkie inne nazwy antybiotyków pisane są przez Doktorantkę pełną nazwą, stąd tym bardziej dziwi zastosowanie w tym przypadku skrótu. Jeżeli autorka nie chciała stosować pełnej nazwy antybiotyku ze względu na jej długość, tj. trimetoprim/sulfametoksazol, można stosować również nazwę preparatu połączonego, tj. kotrimoksazol;
- nieprawidłowy jest zapis „*Staphylococcus aureus* MRSA”. Ze skrótu MRSA już wynika fakt, że jest to *Staphylococcus aureus*, więc nie jest zasadne dopisywania nazwy gatunkowej przed skrótem MRSA (str. 26);
- zastosowano nieprawidłowy zapis kursywą dla nazwy gatunkowej *Salmonella* Typhi (str. 26). Pełna nazwa gatunkowa tego drobnoustroju to *Salmonella enterica* serowar *typhi*. Z uwagi na to, że często stosuje się skrótowy zapis nazwy tej bakterii, przyjęto schemat zapisu bez kursywy części oznaczającej serowar dla zaznaczenia, że nie jest to nazwa gatunkowa *Salmonella*.

2. Ocena zastosowanego piśmiennictwa

Pani Dominika Szczerbiec przygotowując rozprawę doktorską wykorzystwała 172 pozycje bibliograficzne polsko- i anglojęzyczne, głównie w postaci artykułów, ale i pojedynczych wydawnictw książkowych. Spośród cytowanych pozycji bibliograficznych 121 (70,3%), to pozycje z ostatnich 10 lat (z okresu od 2014 do 2023 roku). Wśród wszystkich pozycji zdecydowana większość, tj. 168 (97,7%) to prace anglojęzyczne. Prace napisane przez polskich autorów stanowią niecałe 10% wszystkich pozycji bibliograficznych, co tylko podkreśla fakt, że temat podjęty w przedstawione do recenzji rozprawie doktorskiej jest stosunkowo słabo zbadany w odniesieniu do szczepów, mogących mieć właściwości charakterystyczne dla naszego regionu geograficznego.



Sam dobór piśmiennictwa jest poprawny. Pozwolił on na opisanie Doktorantce podstaw naukowych, na których oparła swoje hipotezy badawcze oraz dostarczył informacji do stworzenia ciekawej dyskusji wyników.

Reasumując, zastosowane w ramach przygotowanej rozprawy doktorskiej piśmiennictwo nie budzi moich zastrzeżeń.

3. Ocena zastosowanych metod badawczych

Doktorantka w badaniach przedstawionych w recenzowanej rozprawie doktorskiej stosowała bardzo różne techniki badawcze, co świadczy o Jej wszechstronnym przygotowaniu do prowadzenia badań naukowych.

W celu realizacji zdań stanowiących podstawowy cel badań, tj. ocenę wpływu *Lactobacillus* spp. izolowanych z moczu na patogenność *P. mirabilis* i rozwój infekcyjnej kamicy moczowej, Doktorantka pozyskała szczepy *Lactobacillus* spp. z moczu osób zdrowych. Tutaj mam uwagę do użytego w publikacji nr 1 stwierdzenia w opisie szczepów bakteryjnych, że pozyskany mocz był jałowy. Z uwagi na to, że jednak w 43 przypadkach izolowano drobnoustroje z tych próbek, trudno określić go jako wyjściowo jałowy. Może bardziej prawidłowym stwierdzeniem byłoby „mocz uzyskany od dawców bez objawów zakażenia w obrębie dróg moczowych”. Wartością dodaną tego etapu jest włączenie do badań dwóch szczepów referencyjnych z amerykańskiej kolekcji szczepów wzorcowych (American Type Culture Collection®, ATCC®). W mojej opinii, włączanie do badań szczepów referencyjnych powinno stanowić element każdego badania naukowych, co pozwala później na wiarygodne porównywanie wyników i swoistą kontynuację badań, mogących stanowić uzupełnienie wiedzy w określonym temacie badawczym.

Do badań zostały pozyskane również szczepy *P. mirabilis* od osób z kamcią moczową. Szczepy zostały zidentyfikowane i ocenione pod względem antybiotyko-wrażliwości w ramach toku diagnostycznego w laboratorium, z którego Doktorantka pozyskała szczepy. Mam jednak uwagę do interpretacji wrażliwości szczepów *P. mirabilis* na badane antybiotyki. Doktorantka podaje, że interpretacji dokonano na podstawie kryteriów EUCAST. Nie wiem w takim razie, dlaczego został dokonany podział wyłącznie na szczepy wrażliwe i odporne, skoro w kontekście imipenemu nie jest możliwe zakwalifikowanie szczepu w kategorii „wrażliwy”. Najniższa kategoria, do której może ten szczep być przypisany, to wrażliwy przy zwiększonej ekspozycji. Ponadto, wg EUCAST nie ma możliwości określenia, czy szczepy z gatunku *P. mirabilis* są wrażliwe lub odporne na tigeicyklinę i nitrofurantoinę. Zgodnie z ogólnie przyjętą wiedzą i informacjami ze strony EUCAST, gatunek ten jest zaliczany do wykazujących spodziewany fenotyp oporności na nitrofurantoinę (dawniej, naturalnie opornych; https://www.eucast.org/expert_rules_and_expected_phenotypes/expected_phenotypes), zaś w tabelach EUCAST nie ma kryteriów interpretacji dla tigeicykliny, uważając, że aktywność tego antybiotyku jest niewystarczająca do leczenia zakażeń o etiologii, m.in. *P. mirabilis*. W konsekwencji, należy również weryfikować liczbę szczepów wieloantybiotykoopornych (multidrug resistant, MDR), tj. opornych na jednej antybiotyk z co najmniej trzech różnych

grup. W przypadku, gdyby zostały z analizy wykluczone szczepy o spodziewanych fenotypie oporności (a takie nie powinny być brane pod uwagę przy kategoryzacji szczepów do grupy MDR) i gdyby uwzględnić oporność na antybiotyki wynikającą z określonych mechanizmów oporności (np. wytwarzanie przez szczep beta-laktamaz o rozszerzonym spektrum substratowym, extended spectrum beta-lactamases, ESBL), co nie zostało opisane w tej pracy, to przypuszczam, że liczba szczepów zaliczonych przez Doktorantkę do grupy MDR byłaby inna. Prosiłabym również o sprawdzenie fenotypu wrażliwości na antybiotyki szczepu *P. mirabilis* opisanego jako KP – oporność na meropenem przy zachowanej wrażliwości na imipenem i piperacylinę z tazobaktamem jest bardzo rzadka, więc lepiej mieć pewność takiego wyniku. Sugeruję w tej sytuacji powtórzenie oznaczenia, wykorzystując bardziej dokładną metodę, np. dyfuzji antybiotyku z paska w gradiencie stężenia. Żadna z powyższych uwag nie wpływa na całość wyników badań, gdyż Doktorantka w swojej rozprawie doktorskiej nie wiązała cech związanych z fenotypem oporności na antybiotyki z pozostałymi wynikami. Jednak, gdyby w przyszłości chciałyby oceniać aktywność badanych szczepów *Lactobacillus* spp., ich metabolitów czy polisacharydów wydzielanych pozakomórkowo wobec tych szczepów *P. mirabilis*, uwzględniając ich fenotypy oporności, to istnieje ryzyko, że mogłyby zostać wyciągnięte nieprawidłowe wnioski.

W kolejnych etapach badań, Doktorantka samodzielnie uzyskała supernatanty *Lactobacillus* spp. pozbawione żywych komórek bakterii oraz oceniała ich aktywność wobec szczepów *P. mirabilis*, dążąc do określenia, które z substancji wydzielanych pozakomórkowo przez *Lactobacillus* spp., będą miały aktywność przeciwbakteryjną. Doktorantka stosowała referencyjną dla oceny działań przeciwdrobnoustrojowych metodę mikrorozcieńczeń w podłożu płynnym i stałym. Identyfikacja jakościowa i ilościowa ocena kwasów organicznych wytwarzanych przez szczepy *Lactobacillus* spp. została przeprowadzona przy wykorzystaniu HPLC i metod spektrofotometrycznych, zaś określenie działania kwasów organicznych, stanowiących produkty metabolizmu *Lactobacillus* spp, wobec wzrostu bakterii z gatunku *P. mirabilis* i wpływu na intensywność tworzonego przez nie biofilmu, oceniono metodą spektrofotometryczną opartą na pomiarze absorbancji MTT. Tutaj mam pytanie dotyczące metodologii badań – czy w ocenie wpływu danego kwasu organicznego na wzrost i intensywność tworzenia biofilmu stosowano te same próbki supernatantów pochodzących, w których oceniano stężenia kwasu mlekowego, bursztynowego i cytrynowego, czy też obie fazy badań były niezależne od siebie i do kolejnego etapu na nowo otrzymywano badane kwasy organiczne?

W kolejnych etapach badań, w których oceniano proces krystalizacji stanowiący pierwszy z etapów tworzenia kamieni moczowych, Doktorantka bazowała na metodzie opracowanej przez swoją promotorkę, dr hab. Agnieszkę Torzewską, prof. UŁ, wprowadzając własne modyfikacje. Umiejętność dostosowywania istniejących metod badawczych do kolejnych celów eksperymentalnych uważam za olbrzymią umiejętność w warsztacie pracy badacza. Bardzo słuszne wydaje się skupienie się Doktorantki na ocenie aktywności ureazy jako kluczowego enzymu wydzielanego przez *P. mirabilis* w przebiegu zakażenia układu

moczowego. Do określenia typu inhibicji enzymu została zastosowana przez Doktorantkę bardzo dokładana metoda oceny kinetyki enzymatycznej.

Zastosowanie powyższych metod badawczych pozwoliło na wyciągnięcie kompleksowych wniosków potwierdzających wpływ substancji wydzielanych pozakomórkowo przez *Lactobacillus* spp. na aktywność enzymatyczną i wzrost bakterii z gatunku *P. mirabilis* oraz na proces krystalizacji. Z tego powodu bardzo zasadne było podjęcie kolejnych badań, w których Doktorantka oceniła aktywność samych substancji pozakomórkowych *Lactobacillus* spp. na adhezję i cytotoksyczność wobec komórek nabłonkowych pęcherza moczowego, stosując adekwatne metody badawcze. W ostatnim etapie badań Doktorantka skupiła się na ocenie konkretnych wyizolowanych białek i cukrów dwóch gatunków *Lactobacillus* spp. na kluczowy etap krystalizacji, tj. agregację kryształów. Zastosowała metodę pomiaru potencjału zeta oraz zliczania pól powierzchni otrzymanych agregatów z użyciem, m.in. metod mikroskopowych. W mojej opinii jest to bardzo dobry kierunek badań, którego wyniki mogą znacznie poszerzyć stan wiedzy w temacie zainteresowań Doktorantki.

W przypadku każdej z metod została również przeprowadzona analiza statystyczna uzyskanych wyników, a zastosowane metody statystyczne, w mojej opinii, są odpowiednie do typu danych wyjściowych.

Na podkreślenie zasługuje fakt, że Doktorantka bardzo umiejętnie wykorzystuje techniki badawcze o bardzo zróżnicowanym poziomie zaawansowania aparaturowego, łącząc różne aspekty badań, aby wyciągnąć interesujące wnioski. Jest to bardzo ważna cecha doświadczonego badacza.

4. Merytoryczna ocena rozprawy doktorskiej

Badania, których wyniki, w mojej opinii, stanowią podstawę do ubiegania się o stopień doktora poruszają bardzo istotny klinicznie problem, jakim jest rozwój kamicy moczowej, w patogenezie której duże znaczenie mają bakterie ureazo-dodatnie, m.in. *P. mirabilis*. Kamica moczowa jest stanem chorobowym, który, oprócz tego, że niejednokrotnie wiąże się z ogromnym dyskomfortem dla pacjenta, może prowadzić do ciężkich powikłań, jak zastój moczu, zapalenie nerek czy nawet urosepsa. W leczeniu kamicy moczowej mają zastosowanie przede wszystkim metody fizyczne prowadzące do rozkruszenia kamieni moczowych oraz metody zabiegowe, w trakcie których kamienie są usuwane z układu moczowego. Uzupełniającą formą leczenia jest farmakoterapia. W przypadku tzw. kamieni infekcyjnych farmakoterapia wymaga włączenia antybiotyków, które muszą być aktywne wobec drobnoustrojów zamkniętych w strukturze kamienia moczowego.

Doktorantka w sposób bardzo logiczny zaplanowała zadania badawcze, rozpoczynając od izolacji i identyfikacji bakterii z rodzaju *Lactobacillus* spp. z dróg moczowych zdrowych osób, a następnie określiła ich potencjał w eradykacji pałeczek z gatunku *P. mirabilis*. Na podkreślenie zasługuje fakt, że do badań włączono izolaty patogenów wyosobnione z posiewów moczu osób ze zdiagnozowaną kamicą moczową oraz z kamieni moczowych. Tutaj

mam do Doktorantki pytanie, czy jest w stanie dostarczyć dodatkowych informacji na temat szczepów *P. mirabilis* włączonych do badań i określić, czy były izolowane od osób, u których wielokrotnie stwierdzano obecność bakterii tego gatunku w posiewach moczu, czy też była to izolacja jednokrotna i na tej podstawie wyciągnięto wniosek, że biorą one udział w patogenezie infekcyjnej kamicy moczowej.

Kolejnym etapem badań była ocena intensywności tworzenia kryształów struwitu i apatyty, jako pierwszego etapu powstawiania infekcyjnych kamieni moczowych, w zawiesinach zawierających patogenne szczepy *P. mirabilis* oraz potencjalnie probiotyczne szczepy *Lactobacillus* spp. Doktorantka wykazała, że obecność w hodowli szczepów rodzaju *Lactobacillus* hamuje proces krystalizacji oraz zmniejsza żywotność pałeczek *P. mirabilis*.

Wyniki uzyskane w tym etapie stanowiły podstawę do podjęcia dalszych badań, których celem było określenie podłoża zaobserwowanych zmian. Doktorantka postawiła za cel tego etapu ocenę wpływu szczepów *Lactobacillus* spp. i kwasu mlekowego, będącego ich głównym produktem metabolizmu, na aktywność najistotniejszego w patogenezie kamieni struwitowych czy apatytowych enzymu wydzielanego przez *P. mirabilis*, tj. ureazę.

Uzyskane w tych etapach badań wyniki, pozwoliły sformułować kolejny cel badań, tj. ocenę wpływu substancji zewnątrzkomórkowych *Lactobacillus* spp. na proces krystalizacji oraz adhezję *P. mirabilis* do komórek nabłonkowych pęcherza moczowego. Celem tego etapu była również ocena cytotoksyczności indukowana szczepami *P. mirabilis* wobec komórek pęcherza moczowego.

Ocena agregacji kryształów struwitu w obecności zewnątrzkomórkowych białek i cukrów dwóch wybranych gatunków *Lactobacillus* spp. stanowiła ostatni z etapów badań w przedstawionej do recenzji rozprawie doktorskiej jako wyniki, które nie zostały jeszcze opublikowane.

Biorąc pod uwagę spójność poszczególnych celów kolejnych etapów badań, kompleksowość ich realizacji oraz jakość uzyskanych wyników i wniosków, oceniam pracę jako wyróżniającą się.

Doktorantka w rozprawie doktorskiej przedłożonej do recenzji wykazała, że szczepy *Lactobacillus* spp. izolowane z moczu osób zdrowych oraz wytwarzane przez nie kwasy organiczne, głównie kwas mlekowy, mają właściwości hamujące wzrost pałeczek *P. mirabilis*. Bakterie te zaliczane są do istotnych patogenów dróg moczowych i są ważnym czynnikiem etiologicznym infekcyjnych kamieni moczowych tworzących się w zasadowym pH moczu, tj. kamieni struwitowych i apatytowych. Efektem badań było również wykazanie przez Doktorantkę potencjalnego mechanizmu przeciwbakteryjnego działania kwasów organicznych, tj. hamowanie krystalizacji składników moczu jako pierwszego etapu tworzenia kamieni moczowych. Doktorantka w swoich badaniach skoncentrowała się na ocenie wpływu kwasu mlekowego, jako wytwarzanego w najwyższym stężeniu wśród badanych kwasów organicznych przez wszystkie włączone do badań szczepy *Lactobacillus* spp., na aktywność ureazy *P. mirabilis*, wykazując istotny wpływ tego kwasu na hamowanie aktywności enzymu. Dodatkowo, Doktorantka udowodniła, że działanie to jest realizowane poprzez oddziaływanie



kompetencyjne kwasu mlekowego z centrum aktywnym ureazy. W efekcie dalszych badań, do których zostały włączone trzy szczepy *Lactobacillus* spp. w zróżnicowany sposób hamujące krystalizację składników moczu indukowaną przez pałeczki *P. mirabilis*, Doktorantka mogła stwierdzić, że substancje zewnątrzkomórkowe wybranych gatunków *Lactobacillus* spp. hamują adhezję badanych szczepów *P. mirabilis* do komórek nabłonkowych dróg moczowych. W przypadku jednego ze szczepów *P. mirabilis* wykazano dodatkowo ograniczenie cytotoksyczności, która była indukowana zakażeniem. Ostatni z etapów badań, które zostały przedstawione w niniejszej rozprawie doktorskiej, dotyczył oceny wpływu polisacharydów dwóch szczepów *Lactobacillus* spp. na proces agregacji struwitu. Agregacja jest kolejnym, po krystalizacji, etapem tworzenia kamieni moczowych. Doktorantka wykazała, że substancje polisacharydowe niektórych szczepów mogą wzmacniać proces agregacji, co sugeruje, że dobór szczepów, które mogłyby zostać użyte w profilaktyce czy wspomaganiu leczenia infekcyjnej kamicy moczowej, powinien być bardzo ostrożny i być wynikiem kompleksowych badań.

Wyniki uzyskane przez Doktorantkę i przedstawione w niniejszej rozprawie doktorskiej dają podstawy do przeprowadzenia bardziej zaawansowanych badań, obejmujących badania *in vivo*. Ich celem powinno być potwierdzenie wstępnych wniosków uzyskanych przez Doktorantkę, tj. że szczepy *Lactobacillus* spp. oraz wytwarzane przez nie kwasy, w szczególności kwas mlekowy, mogą stanowić jedną z form zapobiegania lub wspomagania leczenia kamicy moczowej, w przebiegu której obserwuje się występowanie kamieni struwitowych lub apatytowych. Wprowadzenie bakterii probiotycznych do układu pokarmowego człowieka lub substancji prebiotycznych, które stymulowałyby wzrost naturalnej mikrobioty układu moczowego, wykazującej skuteczność w profilaktyce lub wspomaganiu leczenia infekcyjnej kamicy moczowej, wydaje się być pożądanym kierunkiem badań. Jest to szczególnie istotne w dobie narastającej oporności bakterii na antybiotyki i globalnego kryzysu antybiotykowego, będącym konsekwencją nadużywania antybiotyków. Wobec powyższego uważam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu badawczego, którym jest zapobieganie i wspomaganie leczenia infekcyjnej kamicy moczowej.

Uzyskane przez Doktorantkę wyniki badań mogą zostać praktycznie wykorzystane do przeprowadzenia badań *in vivo*, których celem byłoby wykazanie pozytywnego działania określonych szczepów *Lactobacillus* spp. lub substancji przez nie wydzielanych pozakomórkowo w ograniczaniu rozwoju infekcyjnej kamicy moczowej. W przypadku wykazania korzyści *in vivo*, uzyskane wyniki stwarzają ogromny potencjał aplikacyjny w profilaktyce rozwoju kamicy moczowej czy zapobiegania jej nawrotom, często obserwowanym w przypadku obecności kamieni infekcyjnych. Określone szczepy *Lactobacillus* spp. czy też kwas mlekowy, dla którego Doktorantka wykazała największe właściwości przeciwbakteryjne, mogłyby być podawane, np. w formie suplementów diety. Modyfikacje dotyczące składu mikrobiomu jelitowego mają ogromny wpływ na wiele aspektów funkcjonowania organizmu człowieka, m.in., na układ immunologiczny czy układ nerwowy. Można przypuszczać, że zmiana w mikrobiomie jelitowym pociąga za sobą zmiany



w mikrobiomach bliskich do niego anatomicznie, tj. głównie w mikrobiomie układu moczowego. Wzbogacenie mikrobiomu jelitowego o szczepy *Lactobacillus* spp., które hamują krystalizację jako pierwszy z etapów tworzenia kamieni moczowych, miałyby niewątpliwie pozytywny wpływ na zdrowie dróg moczowych.

Oprócz opisanych w treści recenzji pewnych uwag co do części opisowej rozprawy doktorskiej oraz kilku uwag dotyczących charakterystyki badanych szczepów, nie widzę żadnych nieprawidłowości w pracy przedstawionej do recenzji. Żadna z moich uwag nie pomniejsza wartości tej pracy.

Na podstawie przedstawionej do recenzji rozprawy doktorskiej uważam, że ogólna wiedza teoretyczna Pani mgr Dominiki Szczerbiec w dyscyplinie nauki biologiczne jest bardzo kompleksowa i zasługuje na wyróżnienie. Poszczególne części rozprawy doktorskiej, odzwierciedlające zaplanowane do realizacji etapy badań, zostały przygotowane w sposób logiczny i uporządkowany, gdzie kolejny fragment jest bezpośrednią konsekwencją wcześniejszego. Doktorantka bezsprzecznie posiada ogromny warsztat pracy różnymi technikami badawczymi i umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.

5. Wniosek końcowy

Reasumując, moja opinia na temat rozprawy doktorskiej mgr Dominiki Szczerbiec jest pozytywna. Uważam, że przedmiot rozprawy doktorskiej przedstawionej do recenzji stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Rozprawa doktorska prezentuje bardzo dużą wiedzę Doktorantki w dyscyplinie nauki biologiczne i potwierdza umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. W mojej opinii niniejsza rozprawa doktorska spełnia wymogi zawarte w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce.

Jednocześnie, doceniając wyróżniający się poziom merytoryczny badań, ich jakość oraz szeroki dobór technik badawczych wnioskuję o wyróżnienie niniejszej rozprawy. Stanowi ona bardzo cenną i dobrze przygotowaną prezentację analizy wyników badań, dotyczących potencjału pałeczek z rodzaju *Lactobacillus* spp. w profilaktyce i leczeniu wspomagającym przypadków infekcyjnej kamicy moczowej o etiologii *P. mirabilis*. Praca porusza bardzo istotny i powszechny, a co więcej - narastający problem. Wybrana tematyka jest niezwykle interesująca, a uzyskane wyniki badań mogą posłużyć jako wartościowy materiał przy kontynuacji badań w kolejnych latach. Po przeprowadzeniu badań *in vivo*, mają również duży potencjał aplikacyjny. Podkreślić trzeba dużą lukę w wiedzy w temacie opisanym przez Doktorantkę, a wyniki przedstawione w niniejszej dysertacji bezwzględnie ją zmniejszają. Uzupełnieniem uzasadnienia o nadanie wyróżnienia jest informacja, że wyniki badań uzyskane przez Doktorantkę i przedstawione w niniejszej dysertacji zostały opublikowane w trzech wysokopunktowanych czasopismach z listy JCR, w których mgr Dominika Szczerbiec jest pierwszym autorem.