

## Spis treści

<b>1. IMIĘ I NAZWISKO</b> .....	<b>2</b>
<b>2. POSIADANE DYPLOMY, STOPNIE NAUKOWE/ARTYSTYCZNE – Z PODANIEM NAZWY, MIEJSCA I ROKU ICH UZYSKANIA</b> .....	<b>2</b>
<b>3. INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH/ARTYSTYCZNYCH</b> .....	<b>2</b>
<b>4. WSKAZANIE OSIĄGNIĘCIA WYNIKAJĄCEGO Z ART. 16 UST. 2 USTAWY Z DNIA 14 MARCA 2003 R. O STOPNIACH NAUKOWYCH I TYTULE NAUKOWYM ORAZ O STOPNIACH I TYTULE W ZAKRESIE SZTUKI (Dz.U. z 2003 R. NR 65, POZ. 595 ZE ZM.)</b> .....	<b>3</b>
4.1. <i>TYTUŁ OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO/ARTYSTYCZNEGO</i> .....	<b>3</b>
4.2. <i>WYKAZ PUBLIKACJI STANOWIĄCYCH OSIĄGNIĘCIE NAUKOWE, O KTÓRYM MOWA W ART. 16 UST. 2 USTAWY (AUTOR/AUTORZY, TYTUŁ/TYTUŁY PUBLIKACJI, ROK WYDANIA, NAZWA WYDAWNICTWA)</i> ...	<b>3</b>
4.3. <i>OMÓWIENIE CELU NAUKOWEGO/ARTYSTYCZNEGO WW. PRACY/PACACH I OSIĄGNIĘTYCH WYNIKÓW WRAZ Z OMÓWIENIEM ICH EWENTUALNEGO WYKORZYSTANIA</i> .....	<b>5</b>
<b>5. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO-BADAWCZYCH</b> .....	<b>22</b>
<b>6. DOROBEK DYDAKTYCZNY I POPULARYZATORSKI ORAZ INFORMACJA O WSPÓŁPRACY KRAJOWEJ I MIĘDZYNARODOWEJ</b> .....	<b>35</b>
6.1. <i>UDZIAŁ W MIĘDZYNARODOWYCH I KRAJOWYCH KONFERENCJACH NAUKOWYCH</i> .....	<b>35</b>
6.1.1. <i>UDZIAŁ W ORGANIZACJI KONFERENCJI KRAJOWEJ</i> .....	<b>39</b>
6.2. <i>CZŁONKOSTWO W MIĘDZYNARODOWYCH I KRAJOWYCH ORGANIZACJACH ORAZ TOWARZYSTWACH NAUKOWYCH</i> .....	<b>40</b>
6.3. <i>WSPÓŁPRACA NAUKOWA Z INSTYTUCJAMI, ORGANIZACJAMI I TOWARZYSTWAMI NAUKOWYMI W KRAJU I ZA GRANICĄ</i> .....	<b>40</b>
6.4. <i>RECENZOWANIE MANUSKRYPTÓW PUBLIKACJI W CZASOPISMACH MIĘDZYNARODOWYCH LUB KRAJOWYCH</i> .....	<b>40</b>
6.5. <i>RECENZJA PROJEKTÓW BADAWCZYCH</i> .....	<b>42</b>
6.6. <i>KIEROWANIE MIĘDZYNARODOWYMI LUB KRAJOWYMI PROJEKTAMI BADAWCZYMI ORAZ UDZIAŁ W TAKICH PROJEKTACH</i> .....	<b>42</b>
6.7. <i>MIĘDZYNARODOWE I KRAJOWE NAGRODY ZA DZIAŁALNOŚĆ NAUKOWĄ ALBO ARTYSTYCZNĄ</i> .....	<b>44</b>
6.8. <i>OSIĄGNIĘCIA DYDAKTYCZNE I W ZAKRESIE POPULARYZACJI NAUKI LUB SZTUKI</i> .....	<b>44</b>
6.9. <i>OPIEKA NAUKOWA NAD STUDENTAMI I DOKTORANTAMI W CHARAKTERZE OPIEKUNA NAUKOWEGO LUB PROMOTORA POMOCNICZEGO</i> .....	<b>47</b>
6.10. <i>PRACA NA RZECZ UCZELNI</i> .....	<b>48</b>

**1. IMIĘ I NAZWISKO:** Dorota Wojnicz**2. POSIADANE DYPLOMY, STOPNIE NAUKOWE/ARTYSTYCZNE – Z PODANIEM NAZWY, MIEJSCA I ROKU ICH UZYSKANIA**

- **18.11.2005** – tytuł doktora nauk medycznych w zakresie biologii medycznej – mikrobiologii uzyskany na Wydziale Lekarskim Akademii Medycznej im. Piastów Śląskich we Wrocławiu na podstawie pracy: *„Wpływ stężeń podprogowych amikacyny i ciprofloksacyny na właściwości pałeczek Escherichia coli izolowanych z moczu dzieci z zakażeniami układu moczowego”*, promotor prof. dr hab. Stanisław Jankowski
- **16.06.1997** – tytuł magistra biologii ze specjalizacją w zakresie mikrobiologii uzyskany na Wydziale Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Wrocławskiego na podstawie pracy: *„Charakterystyka wybranych aktywności enzymatycznych gronkowców izolowanych z materiałów klinicznych”*, promotor dr hab. Jan Kołodyński

**3. INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH/ARTYSTYCZNYCH**

Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Wydział Lekarski

- **od 2006 roku do chwili obecnej** – pracownik naukowo-dydaktyczny na stanowisku adiunkta w Katedrze i Zakładzie Biologii i Parazytologii Lekarskiej
- **1998-2006** – pracownik naukowo-dydaktyczny na stanowisku asystenta w Katedrze i Zakładzie Biologii i Parazytologii Lekarskiej
- **1997-1998** – pracownik inżynierjno-techniczny w Katedrze i Zakładzie Biologii i Parazytologii Lekarskiej

**Stypendium naukowe**

**2011** – podoktorskie stypendium naukowe (10 miesięcy; 01.03.2011 - 31.12.2011) w ramach projektu “Program rozwoju Akademii Medycznej we Wrocławiu,” realizowanego ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego, (Umowa nr 5-S/PD-SN/2011)

**4. WSKAZANIE OSIĄGNIĘCIA WYNIKAJĄCEGO Z ART. 16 UST. 2 USTAWY Z DNIA 14 MARCA 2003 R. O STOPNIACH NAUKOWYCH I TYTULE NAUKOWYM ORAZ O STOPNIACH I TYTULE W ZAKRESIE SZTUKI (Dz.U. z 2003 R. NR 65, POZ. 595 ZE ZM.)**

**4.1. TYTUŁ OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO/ARTYSTYCZNEGO**

Zgodnie z treścią w/w ustawy, osiągnięciem naukowym, dołączonym do wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego, jest cykl pięciu prac naukowych powiązanych tematycznie, objętych wspólnym tytułem:

**„Wpływ wybranych preparatów roślinnych o działaniu przeciwdrobnoustrojowym na uropatogenne szczepy *Escherichia coli* izolowane od pacjentów z infekcjami układu moczowego”**

**4.2. WYKAZ PUBLIKACJI STANOWIĄCYCH OSIĄGNIĘCIE NAUKOWE, O KTÓRYM MOWA W ART. 16 UST. 2 USTAWY (AUTOR/AUTORZY, TYTUŁ/TYTUŁY PUBLIKACJI, ROK WYDANIA, NAZWA WYDAWNICTWA)**

**1. Dorota Wojnicz, Alicja Z. Kucharska, Anna Sokół-Łętowska, Marta Kicia, Dorota Tichaczek-Goska:** Medicinal plants extracts affect virulence factors expression and biofilm formation by the uropathogenic *Escherichia coli*. **Urological Research** 2012 Vol.40 no.6; s.683-697.

**IF: 1.591, Pkt. MNiSW/KBN: 20.00**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy; przygotowaniu ekstraktów roślinnych i określenie ich wpływ na czynniki wirulencji oraz proces tworzenia biofilmu przez pałeczki *E. coli*; wykonywaniu PCR oraz elektroforezy; wykonaniu dokumentacji fotograficznej; analizie i opracowaniu uzyskanych wyników; przygotowaniu manuskryptu; występowaniu w charakterze autora korespondencyjnego.

*Mój udział procentowy szacuję na 85%.*

**2. Dorota Wojnicz, Zuzanna Sycz, Stefan Walkowski, Janina Gabrielska, Aleksandra Włoch, Alicja Kucharska, Anna Sokół-Łętowska, Andrzej B. Hendrich:** Study on the influence of cranberry extract Żuravit S·O·S® on the properties of uropathogenic *Escherichia coli* strains, their ability to form biofilm and its antioxidant properties. **Phytomedicine** 2012 Vol.19 no.6; s.506-514.

**IF: 2.972, Pkt. MNiSW/KBN: 35.00**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy; wykonaniu doświadczeń określających wpływ ekstraktu z żurawiny wielkoowocowej na czynniki wirulencji oraz proces tworzenia biofilmu przez

uropatogenne szczepy *E. coli*; wykonaniu dokumentacji fotograficznej; analizie, opracowaniu i przedstawieniu uzyskanych wyników; przygotowaniu manuskryptu.

*Mój udział procentowy szacuję na 70%.*

- 3. Dorota Wojnicz, Dorota Tichaczek-Goska, Marta Kicia.:** Effect of asiatic and ursolic acids on growth and virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli* strains. **Turkish Journal of Biology** 2013 Vol.37 no.5; s.556-564.

**IF: 1.216, Pkt. MNiSW/KBN: 20.00**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy; wykonaniu doświadczeń określających wpływ kwasu asjatowego i ursolowego na przeżywalność oraz cechy wirulencji szczepów *E. coli*; wykonywaniu PCR oraz elektroforezy; analizie, opracowaniu i przedstawieniu uzyskanych wyników; przygotowaniu manuskryptu oraz występowaniu w charakterze autora korespondencyjnego.

*Mój udział procentowy szacuję na 85%.*

- 4. Dorota Wojnicz, Marta Kicia, Dorota Tichaczek-Goska:** Effect of asiatic and ursolic acids on morphology, hydrophobicity, and adhesion of UPECs to uroepithelial cells. **Folia Microbiologica** 2013 Vol.58 no.3; s.245-252.

**IF: 1.145, Pkt. MNiSW/KBN: 15.00**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy; wykonaniu doświadczeń określających wpływ kwasu asjatowego i ursolowego na zmiany morfologiczne i fizykochemiczne komórek bakteryjnych, zmiany zdolności adhezyjnych pałeczek *E. coli* do komórek nabłonkowych; wykonaniu dokumentacji fotograficznej; analizie, opracowaniu i przedstawieniu uzyskanych wyników; przygotowaniu manuskryptu oraz występowaniu w charakterze autora korespondencyjnego.

*Mój udział procentowy szacuję na 85%.*

- 5. Dorota Wojnicz, Dorota Tichaczek-Goska, Marta Kicia.:** Pentacyclic triterpenes combined with ciprofloxacin help to eradicate the biofilm formed *in vitro* by *Escherichia coli*. **Indian Journal of Medical Research** 2015 Vol.141 no.3; s.343-353

**IF<sub>2013</sub> = 1.661, Pkt. MNiSW/KBN: 20.00**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy; wykonywaniu PCR oraz elektroforezy; wykonaniu doświadczeń określających wpływ związków triterpenowych w połączeniu z ciprofloksacyną na eradykację biofilmu bakteryjnego; wykonaniu dokumentacji fotograficznej; analizie, opracowaniu i przedstawieniu uzyskanych wyników; przygotowaniu manuskryptu oraz występowaniu w charakterze autora korespondencyjnego.

*Mój udział procentowy szacuję na 85%.*

Wszystkie prace zostały opublikowane w czasopismach z listy JCR. Łączny **IF** opublikowanych prac z cyklu habilitacyjnego zgodnie z rokiem opublikowania wynosi **8.585**, suma punktów MNiSW/KBN za ww. publikacje zgodnie z rokiem opublikowania wynosi **110**.

Oświadczenia współautorów znajdują się w załączniku 6.

#### *4.3. OMÓWIENIE CELU NAUKOWEGO/ARTYSTYCZNEGO WW. PRACY/PACACH I OSIĄGNIĘTYCH WYNIKÓW WRAZ Z OMÓWIENIEM ICH EWENTUALNEGO WYKORZYSTANIA*

##### **Cel badań**

Pomimo ogromnego postępu medycyny w rozpoznawaniu i leczeniu chorób infekcyjnych, zakażenia układu moczowego (ZUM) nadal są poważnym problemem klinicznym, terapeutycznym i ekonomicznym. Dominujący udział w etiologii tych zakażeń mają bakterie gram-ujemne, przede wszystkim uropatogenne szczepy *Escherichia coli*. Często przyczyną niepowodzeń w leczeniu przewlekłych i nawracających infekcji dróg moczowych jest zdolność bakterii do tworzenia biofilmu. Wiele cech wirulencji (m.in. hydrofobowy charakter powierzchni komórek, obecność adhezyn, zdolność do ruchu) sprzyja formowaniu masy biofilmowej, a wytwarzana przez drobnoustroje macierz pozakomórkowa chroni je nie tylko przed czynnikami odpowiedzi immunologicznej gospodarza, ale także utrudnia penetrację antybiotyków i chemioterapeutyków. Stężenie leku niezbędne do zabicia komórek bakteryjnych w populacji biofilmu jest wielokrotnie wyższe od bójczego stężenia tego samego terapeutyku w stosunku do form planktonowych. Tak wysokie dawki nie mogą być jednak stosowane w farmakoterapii zakażeń człowieka ze względu na ich toksyczność.

Aktualnie, coraz większa świadomość społeczeństwa na temat szkodliwości nadużywania antybiotyków, powoduje zwiększenie zainteresowania produktami pochodzenia naturalnego. Obecnie ziołolecznictwo rozwija się w dwóch głównych kierunkach. Pierwszy z nich polega na stosowaniu naparów czy wyciągów roślinnych, zawierających kompleksy wielu czynnych substancji. Wiele takich preparatów roślinnych stosowanych jest w przewlekłych schorzeniach przewodu pokarmowego, układu moczowego, układu krążenia oraz zmian skórnych. Drugim kierunkiem rozwoju ziołolecznictwa jest stosowanie pojedynczych związków czynnych wyizolowanych z roślin, zidentyfikowanych i oczyszczonych, mających ściśle sprecyzowane właściwości farmakologiczne oraz mechanizm działania, a przy tym charakteryzujących się w większości stosunkowo małą toksycznością i nielicznymi, niepożądanymi działaniami. Na uwagę zasługuje jeden z ważniejszych aspektów terapii preparatami ziołowymi, a mianowicie aspekt ekonomiczny. Przy powszechnie występujących schorzeniach przewlekłych, lek roślinny jest znacznie tańszy w porównaniu z lekiem syntetycznym.

Aktualnie apteki czy sklepy zielarskie posiadają w swojej ofercie wiele preparatów pochodzenia roślinnego, dlatego też uznałam za celowe by w mojej pracy badawczej określić wpływ surowców roślinnych na cechy wirulencji pałeczek *Escherichia coli* odpowiedzialnych za infekcje dróg moczowych. W moich badaniach szczególną uwagę zwróciłam na cechy fenotypowe tych drobnoustrojów, które sprzyjają adhezji do tkanek gospodarza i powstawaniu biofilmu. W pracy badawczej wykorzystałam wyciągi z ziół rekomendowanych przez lekarzy i farmaceutów zarówno w profilaktyce jak i wspomaganiu leczenia zakażeń układu moczowego (publikacja 1). Bardzo duże zainteresowanie wielu światowych ośrodków naukowo-badawczych właściwościami żurawiny spowodowało, że w swoich badaniach uwzględniłam również dostępny w aptekach preparat Żuravit S·O·S®, zawierający skoncentrowany ekstrakt z owoców tej rośliny (publikacja 2).

Wiadomym jest, że produkty pochodzenia naturalnego swoje właściwości lecznicze zawdzięczają obecności związków czynnych biologicznie, do których należą m.in. flawonoidy. Mimo, że w literaturze opisywane jest działanie wielu związków pochodzenia roślinnego, to nadal poszukiwane są nowe, które mogłyby stanowić alternatywę wobec antybiotykoterapii. Do takich związków należą m.in. triterpeny pentacykliczne, których aktywność przeciwzapalna, immunostymulująca,

cytotoksyczna, przeciwnowotworowa, hepatoprotekcyjna, przeciwcukrzycowa, antywirusowa oraz pierwotniakobójcza została dobrze poznana i opisana. Natomiast niewiele doniesień literaturowych uwzględnia ich działanie antybakteryjne, dlatego za celowe uznałam wykorzystanie tych związków (kwasu asjatowego i ursolowego) w badaniach własnych i określenie ich aktywności przeciwbakteryjnej (publikacja 3, 4 i 5).

## **Omówienie wyników badań**

### **PUBLIKACJA 1**

**Wojnicz D., Kucharska A.Z., Sokół-Łętowska A., Kicia M., Tichaczek-Goska D.: Medicinal plants extracts affect virulence factors expression and biofilm formation by the uropathogenic *Escherichia coli*. Urological Research 2012 Vol.40 no.6; s.683-697.**

W pracy określono wpływ działania sześciu ekstraktów roślinnych z liści brzozy brodawkowatej (*Betula pendula*), liści pokrzywy zwyczajnej (*Urtica dioica*), liści borówki brusznicy (*Vaccinium vitis-idaea*), ziela skrzypu polnego (*Equisetum arvense*), ziela połonicznika nagiego (*Herniaria glabra*) oraz ziela marzanki wonnej (*Galium odoratum*) na przeżywalność, czynniki wirulencji oraz formowanie biofilmu przez uropatogenny szczep *Escherichia coli*. Wybór materiału roślinnego wynikał z wiedzy na temat ich zastosowania w profilaktyce i terapii zakażeń dróg moczowych. Liście brzozowe pobudzają wydalanie moczu i wraz z nim zwiększonej ilości jonów sodowych, chlorkowych i kwasu moczowego. Wyciągi z liści pokrzywy zwyczajnej stosowane są jako środek moczopędny w lekkich stanach nieżytowych i zapalnych dróg moczowych, skąłym wydalaniu moczu, w kamicy moczowej i w skazie moczanowej. Bakteriobójcze działanie w drogach moczowych oraz nieznaczne zwiększenie ilość wydalanego moczu stwierdzono u osób spożywających produkty zawierające wyciągi z liści borówki brusznicy. Ziele skrzypu zwiększa objętość wydalanego moczu, a wraz z nim ilość chlorków. Wyciągi z połonicznika nagiego mogą u niektórych tylko osób zwiększać diurezę, zależnie od stanu czynnościowego nerek, natomiast ogólnie ułatwiają wydalanie jonów sodowych i chlorkowych oraz mocznika. Mogą również rozpuszczać złoże kamieni, zwłaszcza moczanowych.

Wyciągi z ziela marzanki wonnej także zwiększają ilość wydalanego moczu, gdyż działają zarówno spazmolitycznie na drogi moczowe, jak i hamująco na resorpcję zwrotną w cewkach nerkowych.

Wykorzystany w badaniach kliniczny szczep *Escherichia coli* pochodził z moczu pacjenta z odmiedniczkowym zapaleniem nerek. Na podstawie obecności genów *chuA* oraz *yjaA* oraz fragmentu DNA (Tsp.E4.C2) potwierdzono jego przynależność do filogenetycznej grupy B2 szczepów uropatogennych. Jednocześnie dokonano jego charakterystyki genetycznej oraz fenotypowej. Analiza genetyczna ujawniła obecność genów kodujących adhezyny (*papC*, *sfa*, *csaA*), siderofor-aerobaktynę (*aer*), toksyny (*hlyA*, *cnf1*), a także genów związanych z tworzeniem biofilmu (*luxS*, *mcbA*, *mqsR*, *sdiA*, *ant43*). Ponadto wykazano, że badany szczep posiadał cechy warunkujące jego chorobotwórczość, takie jak: hydrofobowy charakter powierzchni komórek, zdolność do ruchu, obecność fimbrii P i fimbrii curli, zdolność do hemaglutynacji erytrocytów oraz tworzenia biofilmu.

Z materiału roślinnego wykonano ekstrakty, które poddano kompleksowej analizie jakościowej i ilościowej na zawartość związków biologicznie aktywnych metodą chromatografii cieczowej ze spektrometrią mas (LC-MS). W ekstrakcie z brzozy brodawkowatej dominowała pochodna propiofenonu – glukozyd 3,4-dihydroksypropiofenonu (DHPPG) oraz należące do flawonoli pochodne kwercetyny (kwercetyna-3-galaktozyd, kwercetyna-3-glukuronid). Flawonole (pochodne kwercetyny i kamferolu) oraz kwasy fenolowe (głównie kwas kaftarowy i jego pochodne) stanowiły największą grupę związków w ekstrakcie ze skrzypu polnego. Ekstrakt z połonicznika nagiego bogaty był we flawonole (kwercetynę, kamferol, izoramnetyna), kwas kawoilochinowy, kwas feruloilochinowy oraz irydoidy należące do monoterpenów. Kwasy fenolowe (kwas protokatechowy, kwas kawoilochinowy), flawonole (kwercetyna i kamferol) oraz irydoidy zostały zidentyfikowane jako główne składniki ekstraktu z marzanki wonnej. Wyciąg z pokrzywy zwyczajnej zawierał przede wszystkim kwasy fenolowe tj. protokatechowy, ferulowy, kumarowy oraz dikawoilochinowy. W ekstrakcie z borówki brusznicy dominowały flawonole, kwasy fenolowe, procyanidyny i irydoidy.

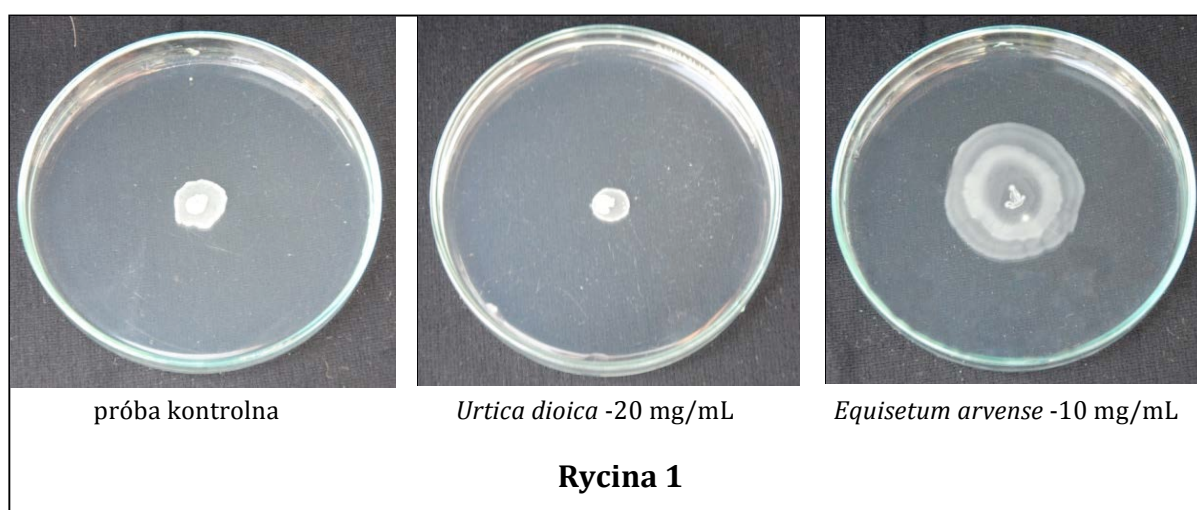
Stosowane ekstrakty roślinne wykazały zróżnicowaną aktywność antybakteryjną. Najefektywniejsze działanie bakteriobójcze posiadały wyciągi z



*Herniaria glabra* oraz *Vaccinium vitis-idaea*. Najmniejszą bójczą aktywność wykazały wyciągi z *Urtica dioica* i *Equisetum arvense*.

Zmiana hydrofobowości powierzchni komórek autoagregującego szczepu *Escherichia coli* nastąpiła po ekspozycji na wszystkie zastosowane w badaniach ekstrakty, z wyjątkiem *Vaccinium vitis-idaea*. Najefektywniej działały wyciągi z *Urtica dioica* i *Galium odoratum*, które spowodowały zmianę charakteru powierzchni badanych komórek bakteryjnych na hydrofilny.

Zdolność po ruszania się pałeczek *Escherichia coli* w podłożu agarowym została istotnie zmniejszona u bakterii inkubowanych w obecności wyciągów pochodzących z *Betula pendula* i *Urtica dioica* (Ryc. 1). Ekstrakty z *Herniaria glabra* i *Vaccinium vitis-idaea* nieznacznie ograniczyły poruszanie się bakterii. Natomiast bakterie poddane działaniu wyciągów z *Equisetum arvense* i *Galium odoratum* charakteryzowały się zwiększoną ruchliwością w porównaniu z próbą kontrolną (Ryc. 1).



Fimbrie P są adhezynami odpowiedzialnymi za przyleganie pałeczek *Escherichia coli* do uroepitelium. Bakterie inkubowane w obecności ekstraktów z *Vaccinium vitis-idaea*, *Galium odoratum*, *Betula pendula* i *Urtica dioica* utraciły zdolność do hemaglutynacji krwinek czerwonych, co mogło świadczyć o utracie fimbrii P z powierzchni komórek bakteryjnych. Takiego efektu nie zaobserwowano natomiast u pałeczek inkubowanych w obecności wyciągów z *Equisetum arvense* i *Herniaria glabra*.

Wytwarzane przez bakterie fimbrie curli odgrywają znaczącą rolę podczas formowania biofilmu. Ich utratę z powierzchni komórek badanego szczepu stwierdzono po inkubacji pałeczek z ekstraktem z *Vaccinium vitis-idaea* oraz *Equisetum arvense*. Bakterie te rosły w postaci białych (a nie różowych) kolonii na podłożu YESCA zawierającym czerwień Kongo, co wskazywało na utratę fimbrii wiążących barwnik. Pozostałe ekstrakty nie wpłynęły na utratę fimbrii curli.

Wykazanie zmian cech wirulencji bakterii, sprzyjających tworzeniu przez nie masy biofilmowej, posłużyło mi jako argument do przeprowadzenia ostatniego etapu badań, mianowicie określenia wpływu wyciągów roślinnych na proces powstawania biofilmu. Ilość biofilmu mierzono metodą spektrofotometryczną. Odczytu dokonywano co 24 godziny, a całe doświadczenie trwało 10 dni. Najefektywniejsze anty-biofilmowe działanie ekstraktów zaobserwowano po 4, 5 i 6 dobie inkubacji bakterii. Ilość masy biofilmowej zmniejszyła się ok. 98% w porównaniu z próbami kontrolnymi. Silne działanie przeciw-biofilmowe zaobserwowano także po 9 i 10 dniach inkubacji bakterii w obecności wyciągów z *Equisetum arvense*, *Herniaria glabra* i *Vaccinium vitis-idaea*. Szczegółowa analiza otrzymanych wyników wykazała, że najlepszy efekt hamujący wytwarzanie masy biofilmowej miały ekstrakty z *Equisetum arvense* i *Herniaria glabra*. Prawdopodobnie rezultaty te związane są z obecnością flawonoidów, mogących blokować autoinduktory za pomocą, których bakterie żyjące w biofilmie porozumiewają się między sobą.

Podsumowując, omawiana praca pozwoliła na uzyskanie nowych informacji dotyczących oddziaływania ekstraktów wodnych pochodzących z liści lub ziela roślin rekomendowanych przy infekcjach dróg moczowych. Uzyskane wyniki umożliwiły poznanie mechanizmów ich działania na uropatogenne pałeczki *Escherichia coli*, które są główną przyczyną tych zakażeń. Wykazano, że przeciwbakteryjna aktywność ekstraktów z liści brzozy brodawkowatej, liści pokrzywy zwyczajnej, liści borówki brusznicy, ziela skrzypu polnego, ziela połonicznika nagiego oraz ziela marzanki wonnej polega nie tylko na hamowaniu wzrostu bakterii i istotnemu ograniczeniu ich przeżywalności, ale także na oddziaływaniu tych wyciągów z czynnikami wirulencji bakterii. Zmniejszona ekspresja tych czynników powoduje, że drobnoustroje stają się mniej chorobotwórcze, co w konsekwencji może ograniczać rozwój infekcji w układzie moczowym.

**PUBLIKACJA 2**

**Dorota Wojnicz, Zuzanna Sycz, Stefan Walkowski, Janina Gabrielska, Aleksandra Włoch, Alicja Kucharska, Anna Sokół-Łętowska, Andrzej B. Hendrich: Study on the influence of cranberry extract Żuravit S·O·S® on the properties of uropathogenic *Escherichia coli* strains, their ability to form biofilm and its antioxidant properties. Phytomedicine 2012 Vol.19 no.6; s.506-514.**

Żuravit S·O·S® jest komercyjnie dostępnym suplementem diety, zawierającym wysoce skoncentrowany ekstrakt z owoców żurawiny wielkoowocowej (*Vaccinium macrocarpon*) i zalecanym w dolegliwościach związanych ze stanem zapalnym dróg moczowych.

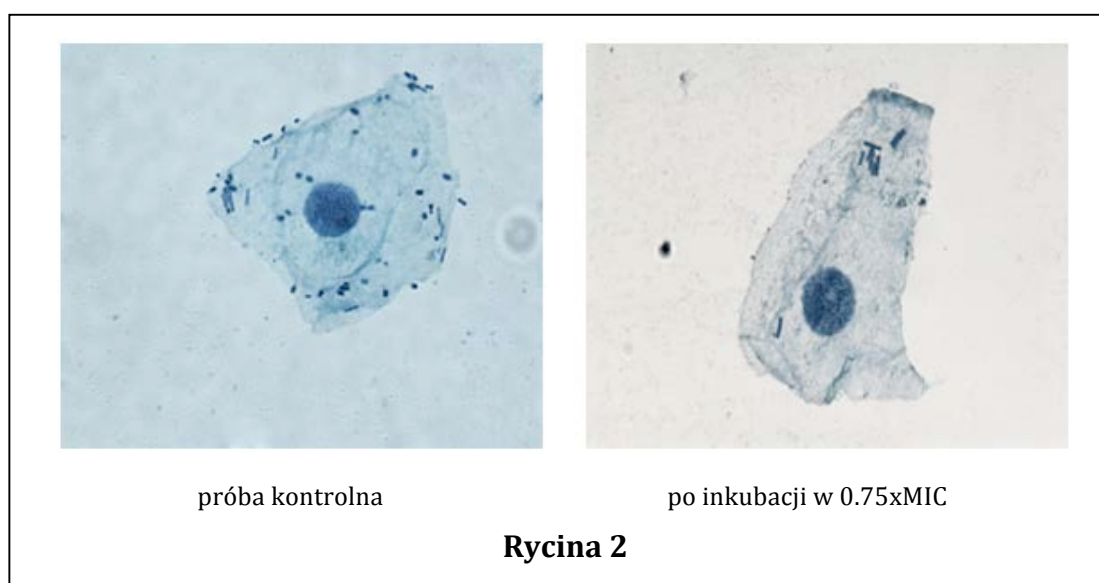
Większość dostępnych prac koncentruje się jedynie na właściwościach antyadhezyjnych żurawiny, dlatego też celem niniejszych badań było poszerzenie wiedzy na temat właściwości antyoksydacyjnych i antybakteryjnych tej rośliny.

Zawarty w preparacie Żuravit S·O·S® ekstrakt z żurawiny wykazał dużą aktywność antyoksydacyjną. Ponadto wykazano, że preparat zawierał duże ilości związków fenolowych (TPC=90.42±1.8 mg GA/g) oraz antocyjanin (TAC=28.95±0.3 mg C3G/g). Wśród antocyjanin obecne były: peonidyno-3-galaktozyd, peonidyno-3-arabinozyd, cyjanidyno-3-galaktozyd, cyjanidyno-3-arabinozyd, cyjanidyno-3-glukozyd, peonidyno-3-glukozyd, malwidyno-3-arabinozyd. Wykorzystany do badań preparat żurawinowy zawierał 21% monomerycznych, 49% dimerycznych i 30% trimerycznych proantocyjanidyn.

W badaniach wykorzystano kliniczne szczepy *Escherichia coli* izolowane z moczu pacjentów z ZUM. Na wstępie określono wartości MIC (minimalne stężenie hamujące wzrost bakterii) ekstraktu wobec bakterii.

Pałeczki *Escherichia coli* inkubowano w obecności 0.25xMIC, 0.5xMIC oraz 0.75xMIC stężeń ekstraktu z żurawiny, a następnie sprawdzano ich wpływ na cechy wirulencji, które przyczyniają się do utrzymania i rozprzestrzeniania tych bakterii w układzie moczowym. Wykazano, że u jednego ze szczepów zmienił się powierzchniowy charakter komórek z bardzo silnie hydrofobowego na hydrofilny, ale tylko po inkubacji w ekstrakcie o stężeniu 0.75xMIC. Bakterie utraciły zdolność do ruchu pod wpływem wszystkich zastosowanych stężeń ekstraktu z żurawiny. Żadne z zastosowanych stężeń wyciągu nie zahamowało syntezy fimbrii curli.

Wyniki moich badań potwierdziły informacje literaturowe dotyczące hamowania procesu adhezji bakterii do komórek nabłonkowych pod wpływem preparatów z żurawiny. Liczba komórek bakteryjnych przyczepionych do nabłonków zmniejszała się proporcjonalnie do rosnących stężeń ekstraktów z żurawiny zastosowanych w doświadczeniach. Najefektywniej anty-adhezyjnie działał wyciąg o stężeniu 0.75xMIC. W tym przypadku liczba bakterii przylegających do komórek nabłonka zmniejszyła się o ok. 80% (Ryc.2).



Warto podkreślić, że zaobserwowano również zmiany morfologiczne szczególnie u pałeczek poddanych działaniu ekstraktów o stężeniach 0.5xMIC oraz 0.75xMIC. W zawiesinach bakteryjnych dominowały krótkie (5-15  $\mu\text{m}$ ) oraz długie filamenty (>15  $\mu\text{m}$ ).

Przyczyną nawracających zakażeń układu moczowego może być zdolność bakterii do tworzenia biofilmu. Antybiotyki słabo penetrują w głąb tej struktury, dlatego część bakterii, która pozostaje w drogach moczowych może ponownie odtworzyć biofilm. Mając to na uwadze, sprawdziłam wpływ preparatu Żuravit S·O·S® na zdolność tworzenia biofilmu przez szczepy *Escherichia coli*. Pomiarów ilości masy biofilmowej dokonywano metodą spektrofotometryczną po 24, 48 i 72 godzinach inkubacji. Wszystkie stężenia ekstraktu zmniejszyły ilość wytwarzanego biofilmu przez pałeczki *Escherichia coli*.

Preparaty zawierające żurawinę (np. Żuravit S·O·S®), które są rekomendowane m. in. przez Europejskie Towarzystwo Urologiczne w profilaktyce zakażeń dróg moczowych, wykazują działanie antybakteryjne.

Podsumowując, otrzymane wyniki w znacznym stopniu poszerzają wiedzę na temat oddziaływania żurawiny na uropatogenne pałeczki *Escherichia coli*. W literaturze dość dobrze opisano jedynie jej efekty antyadhezyjne związane z fimbriami P – adhezynami charakterystycznymi dla szczepów wywołujących odmiedniczkowe zapalenie nerek. Powyższe badania dodatkowo pokazały, że ekstrakt z żurawiny może zmieniać charakter powierzchni komórki bakteryjnej z hydrofobowej na hydrofilną, co wpływa na zmniejszenie liczby bakterii przyczepionych do komórek uroepitelialnych. Ograniczenie zdolności do ruchu i tworzenia biofilmu przez pałeczki *Escherichia coli* pod wpływem działania ekstraktu z żurawiny sugeruje, że preparat ten może być stosowany w profilaktyce, wspomaganiu leczenia oraz w zapobieganiu nawrotom infekcji układu moczowego.

Skłaniam się zatem do wniosku, że szczególnie osoby ze skłonnościami do częstych zakażeń dróg moczowych powinny stosować preparat Żuravit S·O·S® zarówno profilaktycznie jak i wspomagająco podczas antybiotykoterapii.

### **PUBLIKACJA 3**

**Dorota Wojnicz, Dorota Tichaczek-Goska, Marta Kicia.: Effect of asiatic and ursolic acids on growth and virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli* strains. Turkish Journal of Biology 2013 Vol.37 no.5; s.556-564.**

Zakażenia układu moczowego są częstym problemem u zacewnikowanych pacjentów i stanowią ok. 30-40% wszystkich infekcji wewnątrzszpitalnych. Cewnik urologiczny stanowi element, na powierzchni którego łatwo dochodzi do adhezji bakterii i tworzenia się biofilmu. Odrywające się od niego formy planktonowe mogą kolonizować różne odcinki układu moczowego, agregować, a następnie przekształcać się w strukturę dojrzałego biofilmu. Pomimo stosowania leków nowej generacji, dobranych zgodnie z wykonanym antybiogramem, znaczna część chorych z zakażeniem układu moczowego bardzo słabo lub w ogóle ni reaguje na leczenie farmakologiczne. Ograniczona skuteczność leków, działających głównie na planktonowe formy bakterii, wynika z braku ich aktywności wobec złożonej

struktury biofilmu, w którym bakterie charakteryzują się zmienionym metabolizmem.

Wiadomo bowiem, że przejście komórek z fazy wzrostu w planktonie do fazy wzrostu w biofilmie wiąże się ze zmianą ekspresji wielu genów, kodujących nie tylko cechy wirulencji, ale także transportery leków oraz białka regulatorowe. Liczne niepowodzenia w leczeniu przewlekłych, nawracających zakażeń nie pozwalają na nadmierny optymizm w kwestii antybiotykoterapii, szczególnie w odniesieniu do zwalczania infekcji z udziałem biofilmu bakteryjnego. W ostatnich latach wzrosło zainteresowanie związkami roślinnymi jako środkami uzupełniającymi, zmniejszającymi ryzyko pojawienia się infekcji w organizmie człowieka lub wspomagającymi antybiotykoterapię. Jedną z grup takich związków stanowią triterpeny pentacykliczne, których aktywność biologiczna, z wyjątkiem działania antibakteryjnego, jest dość dobrze poznana i opisana. Rośliny bogate w triterpeny są coraz częściej stosowane jako suplement diety w postaci soków, naparów czy kapsułek – profilaktycznie, a także w leczeniu wielu schorzeń, głównie o podłożu zapalnym. Mają one właściwości wzmacniające organizm człowieka, dlatego wykorzystywane są również jako środki wspomagające i ochronne w chemioterapii.

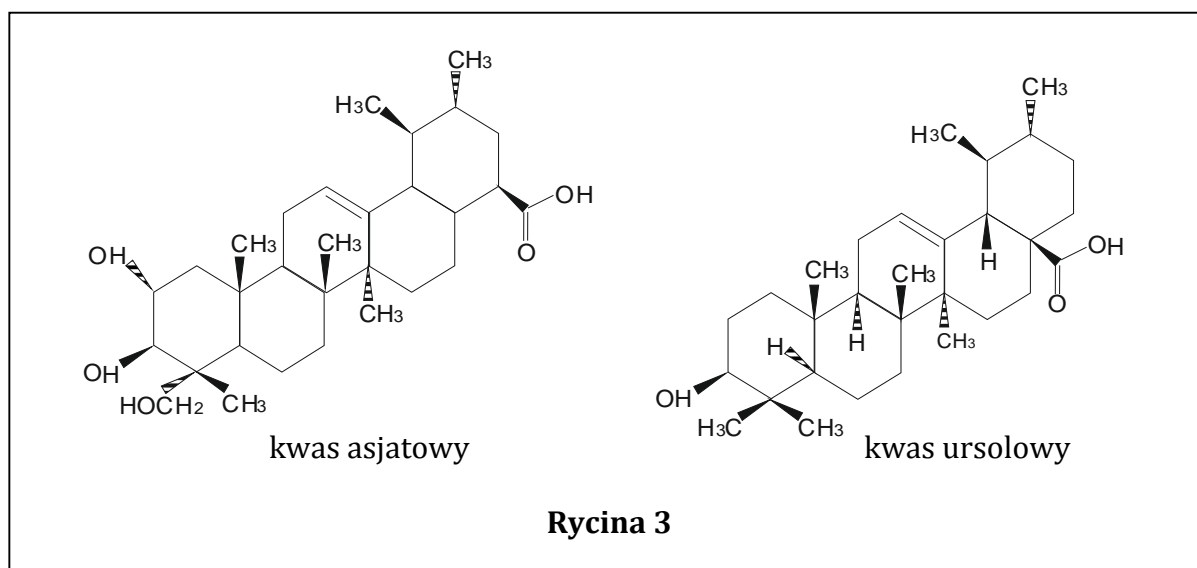
Niewiele doniesień natomiast dotyczy antibakteryjnego działania triterpenów, dlatego też w badania skoncentrowałam się właśnie na tych związkach.

Głównym celem moich badań było określenie wpływu wybranych triterpenów pentacyklicznych – kwasu asjatowego i kwasu ursolowego na cechy wirulencji pałeczek *Escherichia coli* odpowiedzialnych za tworzenie i rozwój biofilmu. Do badań wykorzystano 20 klinicznych szczepów *Escherichia coli* izolowanych z moczu pacjentów z odmiedniczkowym zapaleniem nerek. Badaniami genetycznymi potwierdzono ich przynależność do uropatogennej grupy B2. Szczepy zostały przetestowane na obecność genów kodujących adhezyny (*papC*, *afa*, *draE*, *csgA*) oraz toksynę (*hlyA*) i na tej podstawie podzielono je na 4 patotypy: (1) *papC*<sup>+</sup>, *csgA*<sup>+</sup>, *hlyA*<sup>+</sup>, *afa*<sup>-</sup>, *draE*<sup>-</sup>; (2) *papC*<sup>+</sup>, *csgA*<sup>+</sup>, *hlyA*<sup>-</sup>, *afa*<sup>-</sup>, *draE*<sup>-</sup>; (3) *papC*<sup>-</sup>, *csgA*<sup>+</sup>, *hlyA*<sup>+</sup>, *afa*<sup>-</sup>, *draE*<sup>-</sup>; (4) *papC*<sup>-</sup>, *csgA*<sup>+</sup>, *hlyA*<sup>-</sup>, *afa*<sup>-</sup>, *draE*<sup>-</sup>. Ponad połowa (55%) badanych szczepów należała do patotypu 1.

W badaniach określono minimalne stężenia kwasów asjatowego i ursolowego hamujące wzrost bakterii. Wartości te wahały się od 512 µg/mL do 1024 µg/mL.

Z powodu niskiej dostępności biologicznej tych kwasów w komórkach eukariotycznych w badaniach wykorzystano stężenia 10, 20, 30, 40 i 50  $\mu\text{g/mL}$ .

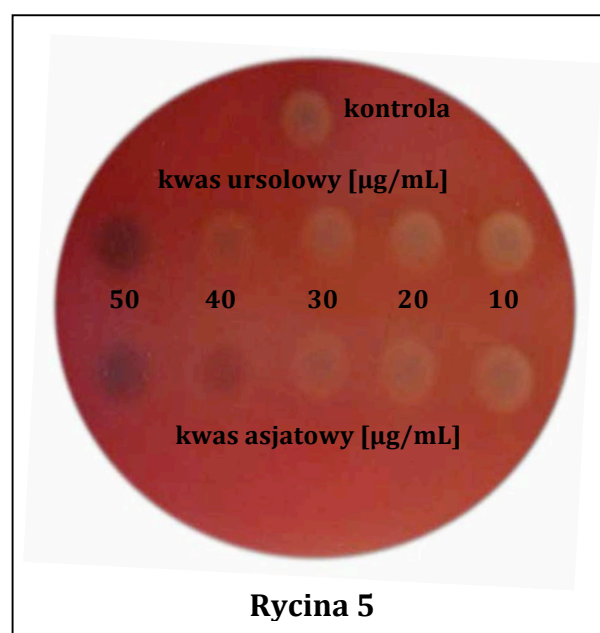
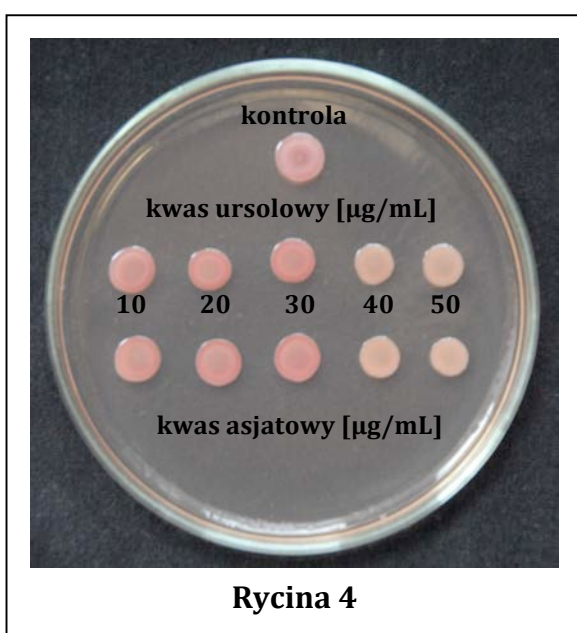
W badaniach określono wpływ kwasów na przeżywalność form planktonowych pałeczek *Escherichia coli*. Pomiarów dokonano po 2, 4, 6 i 24 godzinach. Po 2 godzinach inkubacji odsetek żywych komórek znacząco wzrósł w obecności wszystkich stężeń kwasu ursolowego oraz największego stężenia kwasu asjatowego, w porównaniu z próbą kontrolną. Po 4 godzinach inkubacji przeżywalność zmniejszyła się. Jednakże istotny statystycznie spadek żywych bakterii nastąpił jedynie w przypadku pałeczek inkubowanych w obecności kwasu asjatowego. Po 6 godzinach inkubacji przeżywalność nieznacznie wzrosła, ale po 24 godzinach ponownie zmniejszyła się. Porównując odsetek bakterii poddanych działaniu triterpenów można stwierdzić, że kwas asjatowy wykazuje efektywniejszą aktywność bójczą w porównaniu z kwasem ursolowym. Ta różnica wynika prawdopodobnie z nieco odmiennej struktury chemicznej obu triterpenów. Kwasy te mają inną liczbę grup metylowych i hydroksylowych (Ryc. 3).



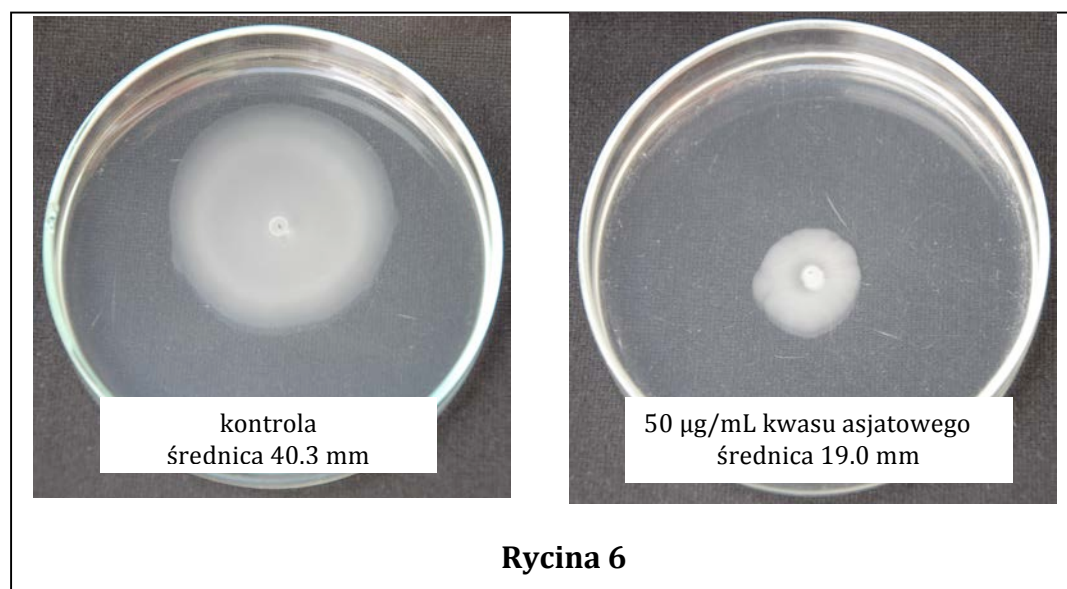
W kolejnym etapie badań wykazano, że 17 spośród 20 badanych szczepów posiadało gen *papC*, ale tylko 15 z nich powodowało aglutynację erytrocytów, co wskazywało na obecność fimbrii P na powierzchni ich komórek. Spośród tych 15 szczepów tylko sześć utraciło zdolności hemaglutynacyjne po inkubacji z kwasem asjatowym i pięć po ekspozycji na kwas ursolowy. Warto podkreślić, że utratę tej cechy wirulencji spowodowało już najmniejsze zastosowane w badaniach stężenie obu triterpenów (10  $\mu\text{g/mL}$ ).

Obecność genu *csgA* stwierdzono u wszystkich testowanych szczepów. Zahamowanie syntezy fimbrii curli zaobserwowano u 4 szczepów poddanych działaniu kwasu asjadowego i 3 szczepów inkubowanych w obecności kwasu ursolowego. Zmiany te występowały jedynie po zastosowaniu dwóch największych stężeń triterpenów – 40 i 50  $\mu\text{g/mL}$  (Ryc. 4).

Spośród 20 testowanych szczepów, 12 posiadało gen *hlyA*, z czego 11 produkowało alfa-hemolizynę. Anty-hemolityczną aktywność kwasów asjadowego i ursolowego (obu w stężeniu 50  $\mu\text{g/mL}$ ) stwierdzono wobec 8 szczepów (Ryc. 5).



Wśród badanych pałeczek, 14 szczepów wykazało zdolność do ruchu. Zaobserwowano zmniejszenie strefy poruszania się bakterii pod wpływem wszystkich zastosowanych stężeń triterpenów, jednak istotne statystycznie wyniki uzyskano jedynie w przypadku 40 i 50  $\mu\text{g/mL}$  (Ryc. 6).





Podsumowując, można stwierdzić, iż otrzymane wyniki badań jednoznacznie wskazują, że zarówno kwas asjatowy jak i ursolowy mają antybakteryjny wpływ na formy planktonowe uropatogennych szczepów *Escherichia coli*. Zaprezentowane rezultaty badań znacznie wzbogaciły wiedzę na temat aktywności tych dwóch związków triterpenowych. Uwzględniając fakt, że niewiele doniesień literaturowych opisuje ich działanie antybakteryjne, uważam, że wyniki te są szczególnie cenne.

#### **PUBLIKACJA 4**

**Dorota Wojnicz, Marta Kicia, Dorota Tichaczek-Goska: Effect of asiatic and ursolic acids on morphology, hydrophobicity, and adhesion of UPECs to uroepithelial cells. Folia Microbiologica 2013 Vol.58 no.3; s.245-252.**

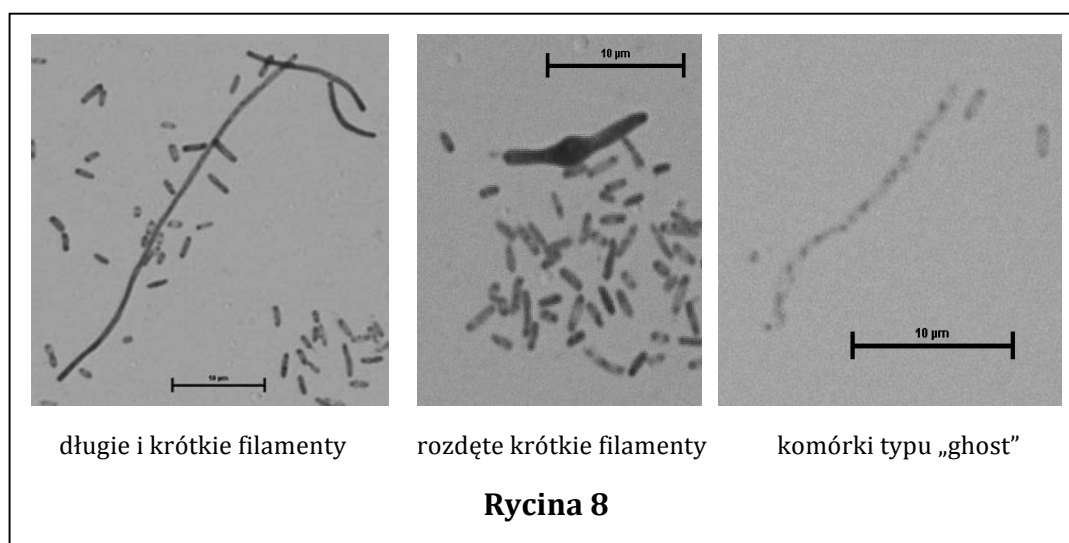
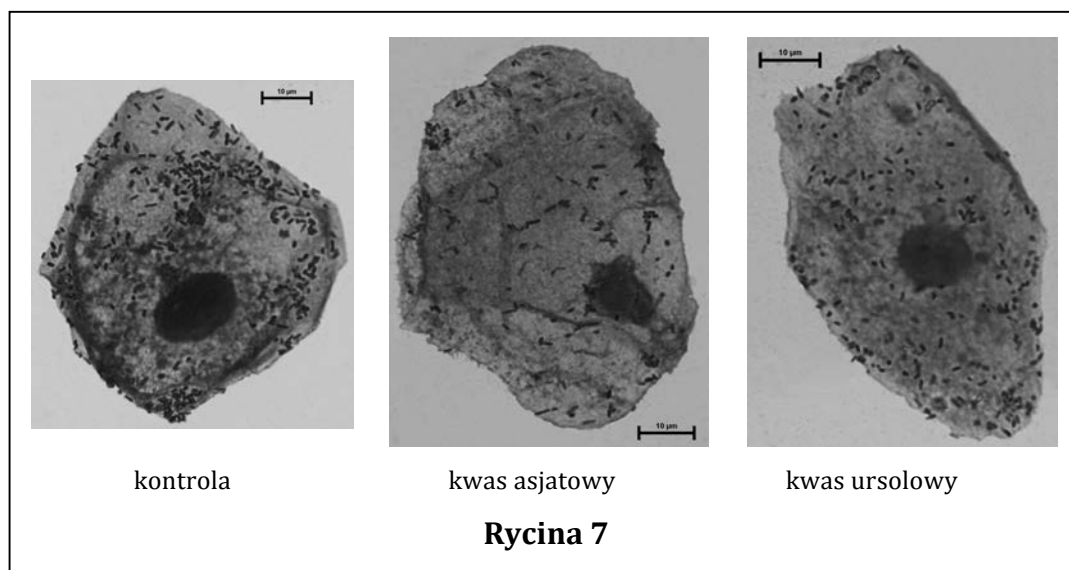
W badaniach wykorzystano kliniczne szczepy *Escherichia coli* pochodzące od pacjentów z odmiedniczkowym zapaleniem nerek. Analiza molekularna potwierdziła, że są to szczepy uropatogenne. W tych doświadczeniach również wykorzystano kwas asjatowy i ursolowy, ponieważ uznałam, że warto określić wpływ tych związków na inne cechy wirulencji niż te przedstawione w publikacji omówionej powyżej (publikacja 3).

Spośród 20 szczepów 15 posiadało powierzchnię komórek określoną jako hydrofobową. Pozostałe szczepy charakteryzowały się hydrofilną powierzchnią komórek. Zasadniczym celem moich badań było określenie wpływu kwasu asjatowego i ursolowego (w stężeniach 10, 20, 30, 40 i 50 µg/mL) na zmianę hydrofobowego charakteru powierzchni komórek bakteryjnych oraz na zdolności adhezyjne badanych pałeczek do nabłonka z dróg moczowych. Zmiana charakteru powierzchni wystąpiła u 3 szczepów poddanych działaniu kwasu ursolowego i 2 szczepów poddanych działaniu kwasu asjatowego (obu w największym zastosowanym stężeniu).

W dalszych badaniach określiłam wpływ triterpenów na adhezję bakterii, charakteryzujących się hydrofobową powierzchnią komórek, zdolnością do syntezy fimbrii P oraz fimbrii curli, do komórek nabłonkowych. Najwyższe stężenia 40 i 50 µg/mL istotnie zmniejszyły liczbę pałeczek przylegających do nabłonka (Ryc. 7).

Dodatkowo, w badaniach określono wpływ kwasów na zmiany morfologiczne bakterii. W hodowlach poddanych działaniu triterpenów zaobserwowano długie

i krótkie filamenty, komórki typu „ghost” oraz krótkie filamenty z poszerzoną częścią środkową komórki (Ryc. 8). Większą liczbę komórek zmienionych morfologicznie zaobserwowano u bakterii inkubowanych w obecności kwasu ursolowego.



Podsumowując, omawiana praca pozwoliła poznać i rozszerzyć wiedzę na temat antyadhezyjnego działania kwasu asjatowego i kwasu ursolowego wobec pałeczek *Escherichia coli*. Poprzez określenie wpływu tych związków na cechy odpowiedzialne za wiązanie się bakterii z komórkami nabłonkowymi (hydrofobowość, obecność fimbrii P oraz fimbrii curli) można wytłumaczyć mechanizm działania kwasów, który powoduje osłabienie zdolności adhezyjnych bakterii. Warto również podkreślić, że zmiany zaobserwowane w morfologii komórek

*Escherichia coli*, poddanych działaniu triterpenów, mogą stanowić dodatkowy element utrudniający adhezję bakterii do komórek uroepitelium.

## PUBLIKACJA 5

**Dorota Wojnicz, Dorota Tichaczek-Goska, Marta Kicia.: Pentacyclic triterpenes combined with ciprofloxacin help to eradicate the biofilm formed *in vitro* by *Escherichia coli*. Indian Journal of Medical Research 2015 Vol.141 no.3; s.343-353.**

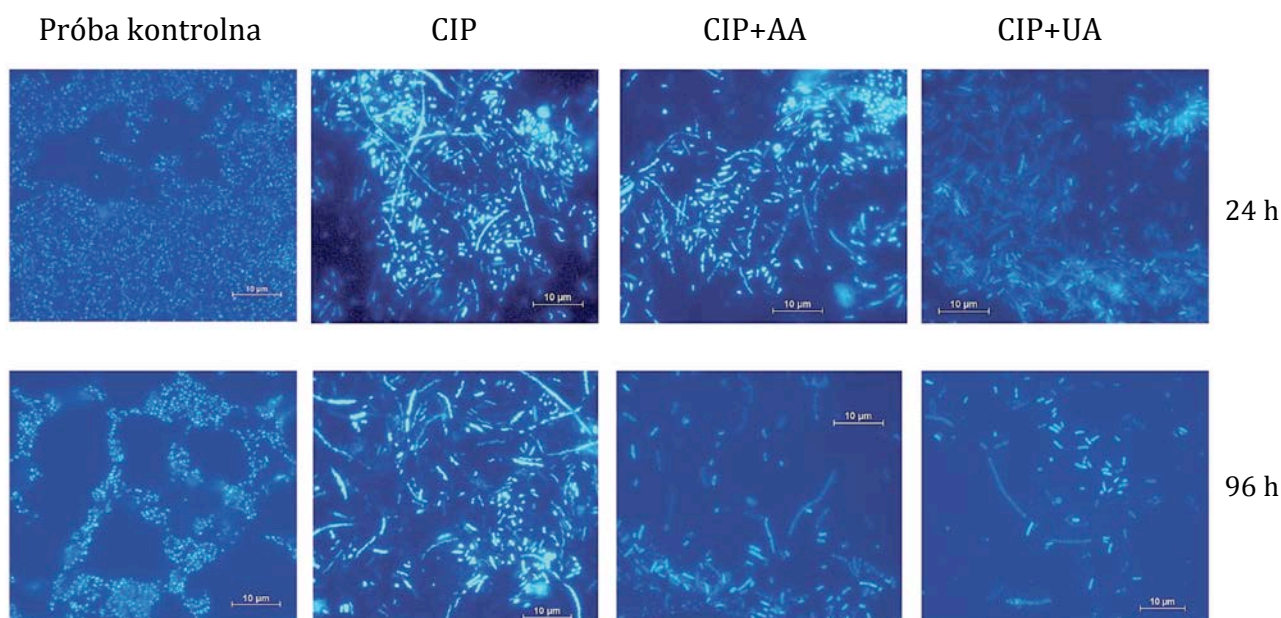
Ciprofloksacyna jest antybiotykiem stosowanym w infekcjach dróg moczowych. Podana pacjentom w określonych dawkach jest skutecznym terapeutycznym wobec form planktonowych bakterii. Niestety w przypadku tworzenia przez drobnoustroje struktury biofilmu ciprofloksacyna nie spełnia swojej funkcji bakteriobójczej, bowiem w kulturach biofilmowych wartość stężenia leku hamująca wzrost bakterii jest nawet 1000-krotnie wyższa w porównaniu z wartością stężenia leku wystarczającą do zabicia form planktonowych. W związku z tym, uznałam za zasadne przeprowadzenie badań określających wpływ ciprofloksacyny (CIP), kwasu asjatowego (AA) oraz kwasu ursolowego (UA), a także ich kombinacji (CIP+AA, CIP+UA) na proces formowania biofilmu na płytkach titracyjnych i na cewnikach urologicznych oraz jego eradykacji.

W badaniach wykorzystano uropatogenne szczepy kliniczne oraz szczep wzorcowy *Escherichia coli* CFT037. Przynależność tych szczepów do grupy uropatogenów wykazano poprzez obecność w ich genomach genów *chuA* i *yjaA* oraz fragmentu *TspE4.C2*. Jednocześnie sprawdzono czy bakterie te posiadają geny, których produkty są istotne w procesie formowania biofilmu (*luxS*, *sdiA*, *mqsR*, *ant43*, *yliH*, *cspG*, *yceP*, *bolA*, *rpoS*). U wszystkich pałeczek stwierdzono występowanie w/w genów.

W pierwszym etapie doświadczeń określono wpływ CIP (0.5xMIC), AA (50µg/mL), UA (50µg/mL) oraz ich kombinacji na proces tworzenia biofilmu. W tym celu posłużono się metodą spektrofotometryczną oraz metodą seryjnych rozcieńczeń w celu określenia liczby żywych komórek bakteryjnych w biofilmie. Ilość tworzonego biofilmu oszacowano na podstawie wartości OD odczytanych po 6, 12, 18, 24, 48, 72 i 96 godzinach inkubacji bakterii w obecności ciprofloksacyny, triterpenów oraz ich

mieszanin. W przypadku szczepów klinicznych anty-biofilmowy efekt mieszanin CIP+AA i CIP+UA zaobserwowano po 12 godzinach inkubacji. Mieszanina CIP+UA również hamowała tworzenie biofilmu po 48, 72 i 96 godzinach. Równolegle określono liczbę żywych komórek występujących w masie biofilmowej. Najmniejszą wartość CFU/mL odnotowano po 72 i 96 godzinach inkubacji bakterii w obecności CIP+AA i CIP+UA. Szczep wzorcowy *Escherichia coli* CFT037 okazał się być bardziej wrażliwy na działanie mieszanin zawierających CIP i związków triterpenowych. Anty-biofilmowe działanie wykazano po 6, 18, 72 i 96 godzinach inkubacji szczepu *Escherichia coli* CFT037 zarówno w obecności CIP+AA jak i CIP+UA. Najmniejsza liczba żywych komórek występowała w 24- i 96-godzinnych hodowlach biofilmowych.

Zmiany zachodzące w biofilmie pod wpływem CIP, CIP+AA oraz CIP+UA obserwowano w mikroskopie fluorescencyjnym po zabarwieniu DAPI (4',6-diamidyno-2-fenylindol). Po 24 godzinach wzrostu, bakterie tworzyły charakterystyczne dla dojrzałego biofilmu duże agregaty (Ryc.9). Tworzenie tych agregatów zostało zahamowane pod wpływem CIP+AA oraz CIP+UA. Po 96 godzinach wielkość agregatów znacznie zmniejszyła się.



Rycina 9

W kolejnym etapie badań określono stopień produkcji biofilmu na silikonowych cewnikach urologicznych wykorzystując 1% TTC (chlorek 2, 3, 5-trójfenylo-tetra-

zoliowy). Bakterie żyjące w biofilmie redukowały TTC do czerwonego formazanu. Ciemniejszy kolor powierzchni cewnika związany był z większą liczbą żywych bakterii. Wśród szczepów klinicznych najslabiej zabarwione były cewniki po 48 godzinach inkubacji we wszystkich badanych próbach, a odsetek żywych komórek zmniejszył się nawet do 29% w porównaniu z próbą kontrolną. Po 72 godzinach liczba komórek zwiększyła się z wyjątkiem próby zawierającej CIP+UA. W przypadku szczepu wzorcowego anty-biofilmowe działanie wykazywały mieszaniny zawierające CIP+AA oraz CIP+UA po 18, 48, 72 i 96 godzinach.

Ostatnim etapem badań było określenie wpływu CIP i kwasów na proces eradykacji 24-godzinnego biofilmu z powierzchni cewników urologicznych. Mieszanina CIP+AA zredukowała liczbę bakterii w masie biofilmowej do 12% w przypadku szczepów klinicznych i do 5% w przypadku szczepu *Escherichia coli* CFT037, natomiast mieszanina CIP+UA zmniejszyła liczbę bakterii do 29% (szczepy kliniczne) i do 18% (szczep wzorcowy). Mieszanina CIP+AA znacznie lepiej działała na dojrzały biofilm niż CIP+UA.

Można przypuszczać, że wynik ten związany jest z charakterem chemicznym cząsteczek kwasu asjatowego i ursolowego. Kwas asjatowy posiada więcej grup hydroksylowych, co czyni go bardziej hydrofilnym związkami, natomiast kwas ursolowy posiada więcej grup metylowych, co przemawia za bardziej hydrofobowym charakterem jego cząsteczki. Prawdopodobnie hydrofilny charakter kwasu asjatowego pozwala mu efektywniej penetrować w głąb biofilmu i w ten sposób poprawiać bójczy efekt działania ciprofloksacyny.

Podsumowując, na podstawie otrzymanych wyników można stwierdzić, że kwas asjatowy oraz ursolowy wykazują synergistyczne działanie z ciprofloksacyną i wraz z nią hamują tworzenie biofilmu bakteryjnego oraz umożliwiają jego eradykację z powierzchni cewników. Można zatem sądzić, że substancje pochodzenia roślinnego mogą stanowić istotny element stosowany w prewencji i wspomaganie leczenia odcewnikowych infekcji dróg moczowych.

### **Najważniejsze wyniki badań związane z opisanym powyżej nurtem badawczym, zawarte w monotematycznym cyklu 5 oryginalnych prac eksperymentalnych**

Do najważniejszych osiągnięć poznawczych, dotyczących preparatów roślinnych oraz ich wpływu na uropatogenne szczepy *Escherichia coli* należy zaliczyć:

- ✚ wykazanie, że zalecane preparaty roślinne w profilaktyce zakażeń układu moczowego zmieniają cechy wirulencji uropatogennych szczepów, w wyniku czego drobnoustroje stają się mniej patogenne
- ✚ potwierdzenie, że suplement diety Żuravit S·O·S® zawierający skoncentrowany ekstrakt z owoców żurawiny wielkoowocowej zmienia czynniki wirulencji odpowiedzialne za proces adhezji bakterii do komórek epitelialnych
- ✚ wykazanie, że wybrane triterpeny pentacykliczne posiadają działanie antybakteryjne, a otrzymane wyniki wzbogacają wiedzę na temat ich biologicznych właściwości
- ✚ udowodnienie, że triterpeny pentacykliczne wykazują synergistyczne działanie z ciprofloksacyną, hamując proces tworzenia biofilmu lub ułatwiając jego eradykację z powierzchni cewników

### **5. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO-BADAWCZYCH**

Pracę naukową rozpoczęłam w Zakładzie Mikrobiologii Instytutu Genetyki i Mikrobiologii Uniwersytetu Wrocławskiego. Pod kierunkiem dr hab. Jana Kołodyńskiego wykonałam zarówno pracę licencjacką pod tytułem „Przyczyny i skutki oporności bakterii na antybiotyki” jak i magisterską zatytułowaną „Charakterystyka wybranych aktywności enzymatycznych gronkowców izolowanych z materiałów klinicznych”. Dnia 16 czerwca 1997 roku obroniłam pracę magisterską z wynikiem bardzo dobrym, a przedstawione w niej wyniki badań zostały opublikowane już w 1998 roku [Wojnicz D., Jankowski S., Kołodyński J.: Charakterystyka wybranych aktywności enzymatycznych gronkowców izolowanych z materiałów klinicznych. *Adv.Clin.Exp.Med.* 1998,7 (3) 293-298; Pkt. MNiSW/KBN: 3.00]

Po uzyskaniu tytułu magistra biologii rozpoczęłam pracę w Katedrze i Zakładzie Biologii i Parazytologii Lekarskiej Wydziału Lekarskiego Akademii Medycznej we Wrocławiu (obecnie Uniwersytetu Medycznego) na stanowisku inżynierjno-technicznym, gdzie pod kierunkiem dr Jerzego Okulewicza

przygotowywałam preparaty parazytologiczne, służące do badań biometrycznych pasożytniczych robaków oraz ich identyfikacji gatunkowej. Preparaty te służą do chwili obecnej jako pomoce dydaktyczne wykorzystywane podczas ćwiczeń ze studentami Wydziału Lekarskiego, Lekarsko-Stomatologicznego, Farmaceutycznego z Oddziałem Analityki Medycznej, a także English Division.

Od 1998 roku, jako asystent, stałam się członkiem zespołu badawczego prowadzonego przez prof. dr hab. Stanisława Jankowskiego. Moje badania skupiły się przede wszystkim na określeniu wpływu subinhibicyjnych dawek leków – amikacyny i ciprofloksacyny na przeżywalność oraz czynniki wirulencji uropatogennych szczepów *Escherichia coli*, do których zalicza się m.in. hydrofobowość powierzchni komórek bakteryjnych, zdolność do hemaglutynacji krwinek czerwonych, syntezy hemolizyn, otoczek oraz adhezji do komórek uroepitelialnych. Do badań celowo wybrano szczepy bakteryjne, które są odpowiedzialne za częste i nawracające zakażenia różnych odcinków układu moczowego u ludzi. Infekcje te stanowią poważny problem kliniczny i terapeutyczny. W badaniach zastosowano stężenia subinhibicyjne leków, ponieważ podczas antybiotykoterapii chorobotwórcze bakterie przez ponad połowę czasu, pomiędzy kolejnymi dawkami leku, poddane są działaniu związku o stężeniu mniejszym niż najmniejsze stężenie hamujące (MIC). Pomimo, że leki zastosowane w stężeniach niższych niż MIC nie zabijają i nie hamują całkowitego wzrostu bakterii, to ograniczają lub redukują ekspresję ich cech chorobotwórczych. Podczas prowadzonych badań, zarówno w mikroskopie świetlnym jak i elektronowym, zaobserwowano zmiany w morfologii komórek bakteryjnych poddanych działaniu subinhibicyjnych stężeń leków. Zmiany te dotyczyły zarówno ich kształtu, jak również wielkości organelli wewnątrzkomórkowych. Otrzymane przeze mnie wyniki okazują się być istotne w diagnostyce mikrobiologicznej, w której kształt oraz charakterystyczne układy popodziałowe komórek bakteryjnych są ważnymi elementami umożliwiającymi ich identyfikację rodzajową i gatunkową. Zgromadzone wyniki stanowiły podstawę do przygotowania rozprawy doktorskiej. Obrona dysertacji doktorskiej pt.: *"Wpływ stężeń podprogowych amikacyny i ciprofloksacyny na właściwości pałeczek Escherichia coli izolowanych z moczu dzieci z zakażeniami układu moczowego"*, na podstawie, której uzyskałam stopień doktora nauk medycznych w zakresie biologii medycznej odbyła się 18 listopada 2005 roku.

Badania przeprowadzone w ramach pracy doktorskiej były tematem 5 artykułów opublikowanych w czasopiśmie o zasięgu krajowym oraz międzynarodowym:

- **Wojnicz D.**, Cisowska A., Jankowski S., Doroszkiewicz W.: Wpływ stężeń podprogowych amikacyny na hydrofobowość powierzchni pałeczek *Escherichia coli* izolowanych od dzieci z zakażeniami układu moczowego **Pol.Merkur.Lek.** 2002, 12 (71) 387-390. Pkt. MNiSW/KBN: 4.00
- **Wojnicz D.**, Jankowski S.: Effects of subinhibitory concentrations of amikacin and ciprofloxacin on the hydrophobicity and adherence to epithelial cells of uropathogenic *Escherichia coli* strains. **Int.J.Antimicrob.Agents** 2007, 29 (6) 700-704. IF: 2.338, Pkt. MNiSW/KBN: 20.00
- **Wojnicz D.**, Kłak M., Adamski R., Jankowski S.: Influence of subinhibitory concentrations of amikacin and ciprofloxacin on morphology and adherence ability of uropathogenic strains. **Folia Microbiol.** 2007, 52 (4) 429-436. IF: 0.989, Pkt. MNiSW/KBN: 15.00
- **Wojnicz D.:** Virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli* strains isolated from children with chronic pyelonephritis. **Adv.Clin.Exp.Med.** 2007,16 (5) 651-657. Pkt. MNiSW/KBN: 5.00
- **Wojnicz D.**, Cisowska A.: Composition of the outer membrane proteins of *Escherichia coli* strains in relation to serum susceptibility after exposure to subinhibitory concentrations of amikacin and ciprofloxacin. **Int.J.Antimicrob.Agents** 2009, 33 (6) 579-582. IF: 3.032, Pkt. MNiSW/KBN: 27.00

Część wyników rozprawy doktorskiej została przedstawiona również na dwóch konferencjach krajowych oraz dwóch konferencjach zagranicznych:

- **Wojnicz D.**, Cisowska A., Jankowski S., Doroszkiewicz W.: Wpływ stężeń podprogowych amikacyny na hydrofobowość powierzchni pałeczek *Escherichia coli* izolowanych od dzieci z zakażeniami układu moczowego (ZUM).

**V Sympozjum Polskiego Towarzystwa Nefrologii Dziecięcej.** Białowieża 24-25 maja 2002

- **Wojnicz D.**, Jankowski S.: Wpływ stężeń podprogowych (SUB-MIC) amikacyny i ciprofloksacyny na syntezę alfa-hemolizyny przez szczepy *Escherichia coli*. **Post.Mikrobiol.** 2004 T.43 supl.1; s.150 poz.P-92

**XXV Jubileuszowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów.** Bydgoszcz, 23-25 września 2004

- **Wojnicz D.**, Jankowski S.: The influence of subinhibitory concentrations of amikacin and ciprofloxacin on the morphology of uropathogenic *Escherichia coli* strains.

**International Weigl Conference** "Microorganisms in pathogenesis and their drug resistance". Lviv (Ukraine), September 14, 2003



- **Wojnicz D.:** The effect of subinhibitory concentrations (sub-MICs) of amikacin and ciprofloxacin on adherence of P-fimbriated *Escherichia coli* strains to human epithelial cells. Clin.Microbiol.Infect. 2004,10 suppl.3; 336 poz.P1217;  
**14th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.** Prague (Czech Republic), 1-4 May 2004
- **Wojnicz D.,** Cisowska A., Jankowski S.: The effect of sub-inhibitory concentration (sub-MIC) of amikacin and ciprofloxacin on the loss of capsular antigen K1 by *Escherichia coli* strains. Clin.Microbiol.Infect. 2004, 10 suppl.3; 109 poz.P501;  
**14th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.** Prague (Czech Republic), 1-4 May 2004

W latach 2002-2005 oprócz badań mikrobiologicznych prowadziłam równocześnie badania parazytologiczne. We współpracy z **Katedrą i Zakładem Periodontologii, Katedrą i Kliniką Chirurgii Szcękowo-Twarzowej** oraz **Katedrą i Kliniką Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku** Akademii Medycznej (obecnie Uniwersytetu Medycznego) we Wrocławiu określono częstość występowania rzęsistka policzkowego (*Trichomonas tenax*) i pełzaka dziąsłowego (*Entamoeba gingivalis*) u pacjentów hospitalizowanych w w/w Klinikach. Wykazano także zależność pomiędzy obecnością tych pasożytów, a rodzajem zdiagnozowanego schorzenia. Wyniki badań były bardzo istotne, ponieważ ówczesne zdania naukowców na temat udziału tych dwóch gatunków pierwotniaków w schorzeniach tkanek miękkich i twardych twarzoczaszki były odmienne. Jedni uważali, że za organizmy komensalne, inni za patogeny. Otrzymane rezultaty skłoniły nas do wniosku, że pierwotniaki z rodzaju *Entamoeba* należy uznać za patogenne dla człowieka.

Część rezultatów została opublikowana w następujących pracach:

- Kaczkowski H., Sarowska J., **Wojnicz D.**, Nowicka J., Kozłowski Z., Jankowski S.: Występowanie *Entamoeba gingivalis* i *Trichomonas tenax* w jamie ustnej u chorych na ostre białaczki i nowotwory układu limforetykularnego. **Dent. Med. Probl.** 2004, 41 (4) 683-685. Pkt. MNiSW/KBN: 3.00
- Sarowska J., **Wojnicz D.**, Kaczkowski H., Jankowski S.: Występowanie *Entamoeba gingivalis* i *Trichomonas tenax* u pacjentów ze schorzeniami przyzębia, w stanie immunosupresji i z chorobami genetycznymi. **Adv.Clin.Exp.Med.** 2004 Vol.13 no.2; s.291-297. Pkt. MNiSW/KBN: 5.00

Pozostałe wyniki przedstawiono na konferencjach krajowych i zagranicznych:

- Sarowska J., **Wojnicz D.**, Kaczkowski H.: The preliminary report concerning occurrence of *Entamoeba gingivalis* in patients with periodontal diseases hospitalized in Department of Maxillo-Facial Surgery Medical University of Wrocław. Wiad. Parazytol. 2003 T.49 nr 1; s.98

**XIV Wrocławska Konferencja Parazytologiczna** pt. "Parazytologia na przełomie XX/XXI wieku", Wrocław, 18 października 2002

- Kaczkowski H., Sarowska J., **Wojnicz D.**, Adamowska-Pajor M.: Występowanie pełzaka dziąsłowego (*Entamoeba gingivalis*) w schorzeniach tkanek miękkich i kośćca twarzy w materiale Kliniki Chirurgii Szczękowo-Twarzowej AM we Wrocławiu.

**IV Kongres Polskiego Towarzystwa Chirurgii Jamy Ustnej i Chirurgii Szczęko-Twarzowej**, Białystok, 22-24 maja 2003

- Sarowska J., **Wojnicz D.**, Kaczkowski H., Adamowska-Pajor M.: Zараżenie pełzakiem dziąsłowym (*Entamoeba gingivalis*) jako niedoceniony problem kliniczny.

**XVI Zjazd Polskiego Towarzystwa Epidemiologów i Lekarzy Chorób Zakaźnych** "Współczesne problemy chorób zakaźnych", Białystok, 5-7 czerwca 2003

- Kozłowski Z., Konopka K., **Wojnicz D.**, Sarowska J.: Występowanie *Entamoeba gingivalis* u pacjentów z przewlekłym zapaleniem przyzębia. Czas. Stomatol. 2004 T.57 nr 4 supl.; s.129

**Jubileuszowy X Kongres Stomatologów Polskich**, Wrocław, 22-24 kwietnia 2004

- Kaczkowski H., **Wojnicz D.**, Sarowska J., Rabczyński J., Woytoń H.: Występowanie pełzaka dziąsłowego (*E. gingivalis*) i rzęsistka policzkowego (*T. tenax*) w przewlekłym zapaleniu zatoki szczękowej.

**VI Kongres Polskiego Towarzystwa Chirurgii Jamy Ustnej i Chirurgii Szczękowo-Twarzowej** "Polska Chirurgia Szczękowo-Twarzowa - gdzie jesteśmy, dokąd zmierzamy?". Zamek Książ k/Wałbrzycha, 27-29 wrzesień 2007

- Sarowska J., **Wojnicz D.**, Kaczkowski H., Jankowski S.: The occurrence of *Entamoeba gingivalis* in soft tissues and face skeleton diseases in patients hospitalized in Department of Maxillofacial Surgery Medical University of Wrocław.

**International Weigl Conference** "Microorganisms in pathogenesis and their drug resistance", Lviv (Ukraine), September 14, 2003

- **Wojnicz D.**, Sarowska J., Kozłowski Z.: The occurrence of *Entamoeba gingivalis* in patients with periodontal diseases. Clin.Microbiol.Infect. 2004, 10 suppl.3; 150.

**14th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**. Prague (Czech Republic), 1-4 May 2004

W latach 2000–2008 współpracowałam również z zespołami badawczymi **Zakładu Mikrobiologii Instytutu Genetyki i Mikrobiologii Uniwersytetu Wrocławskiego** oraz **Laboratorium Mikrobiologicznego Dolnośląskiego Centrum Pediatricznego im. J. Korczaka we Wrocławiu**.

W ramach współpracy powstały prace dotyczące:

- 1) analizy lekooporności bakterii gram-dodatnich oraz gram-ujemnych izolowanych m. in. z moczu pacjentów z zakażeniami dróg moczowych, z zainfekowanych ran pooperacyjnych, z materiałów diagnostycznych pochodzących od pacjentów Oddziałów Intensywnej Opieki Medycznej;
- 2) analizy częstości występowania oraz lekooporności pałeczek niefermentujących u dzieci hospitalizowanych w Dolnośląskim Centrum Pediatricznym im. J. Korczaka we Wrocławiu;
- 3) wpływu surowicy ludzkiej na przeżywalność szczepów *Pseudomonas aeruginosa* izolowanych z popłuczyn oskrzelikowi-pęcherzykowych pochodzących od dzieci ze szpitalnym zapaleniem płuc.

Na bazie tej współpracy powstały następujące publikacje:

- Lewczyk E., **Wojnicz D.**, Drulis-Kawa Z., Doroszkiewicz W., Jankowski S.: Wrażliwość na wybrane antybiotyki ziarniaków gram-dodatnich, pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae* oraz pałeczek niefermentujących izolowanych z zakażonych ran pooperacyjnych. **Adv.Clin.Exp.Med.** 2001,10 (3) 211-220. Pkt. MNiSW/KBN: 3.00
- Cisowska A, Lewczyk E., Korzekwa K., **Wojnicz D.**, Jankowski S., Doroszkiewicz W.: Ocena wrażliwości na antybiotyki drobnoustrojów wyizolowanych od dzieci chorych na zakażenia układu moczowego. **Pol.Merkur.Lek.** 2003, 14 (82) 322-326. Pkt. MNiSW/KBN: 5.00
- **Wojnicz D.**, Korzekwa K., Kąkol A., Doroszkiewicz W.: Występowanie i lekooporność na antybiotyki szczepów bakteryjnych izolowanych od pacjentów hospitalizowanych w oddziałach intensywnej terapii. **Med.Dośw.Mikrobiol.** 2007, 59 (1) 75-84. Pkt. MNiSW/KBN: 5.00
- Korzekwa K., **Wojnicz D.**, Doroszkiewicz W., Jankowski S.: Występowanie i lekooporność pałeczek niefermentujących izolowanych od pacjentów hospitalizowanych w Dolnośląskim Centrum Pediatricznym we Wrocławiu w latach 2000-2006. **Med.Dośw.Mikrobiol.** 2008, 60 (2) 101-110. Pkt. MNiSW/KBN: 9.00
- **Wojnicz D.**, Korzekwa K., Cisowska A.: Bakteriobójcza aktywność surowicy ludzkiej wobec pałeczek *Pseudomonas aeruginosa* charakteryzujących się

hydrofilną lub hydrofobową powierzchnią komórek. **Med.Dośw.Mikrobiol.** 2008, 60 (4) 303-309. Pkt. MNiSW/KBN: 9.00

Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora nauk medycznych (listopad 2005 rok) moje zainteresowania naukowe i badawcze nadal były powiązane z problematyką zakażeń układu moczowego. Badania prowadziłam w ramach:

- pracy statutowej w latach 2004-2006, „Współdziałanie dopełniacza, amikacyny i ciprofloksacyny w reakcji bakteriobójczej”

W badaniach przeprowadzonych nad współdziałaniem dawek subinhibicyjnych amikacyny i ciprofloksacyny z normalną surowicą ludzką w efekcie bakteriobójczym, synergizm wykazano w przypadku 25% uropatogennych szczepów *Escherichia coli*. Pozostałe szczepy były niewrażliwe na łączne działanie obu tych czynników w koncentracjach podprogowych. Uzyskane wyniki wskazują, że różnice w podatności na jednoczesne działanie surowicy i antybiotyków mogą występować pomiędzy szczepami należącymi do tego samego rodzaju.

- pracy statutowej w latach 2007-2009, projekt nr ST-98 „Wpływ dawek subinhibicyjnych wybranych antybiotyków na tworzenie antygenów otoczkowych u szczepów *Escherichia coli*”

Badania te stanowiły kontynuację eksperymentów, rozpoczętych jeszcze przed obroną pracy doktorskiej, których celem było określenie wpływu subinhibicyjnych dawek amikacyny i ciprofloksacyny (0.5xMIC, 0.25xMIC, 0.125xMIC) na utratę antygeny otoczkowego K1 przez uropatogenne szczepy *Escherichia coli*. W próbach kontrolnych (bez antybiotyku) odsetek klonów posiadających antygen K1 wynosił 97%-98%. Inkubacja bakterii w obecności stężeń podprogowych ciprofloksacyny zmniejszyła tę wartość do 73%-82%. Natomiast po inkubacji bakterii w obecności stężeń podprogowych amikacyny stwierdzono, że odsetek klonów, u których wykazano obecność otoczki, był nieznacznie mniejszy (90%-93%) w porównaniu z próbą kontrolną. W badaniach dodatkowo określono wpływ obu antybiotyków w stężeniach podprogowych na podatność pałeczek *Escherichia coli* K1 na fagocytozę przez granulocyty obojętnochłonne. W preparatach z rozmazu krwi liczono komórki bakteryjne pochłonięte przez 50 neutrofilii. Z tych danych obliczono dla każdego testowanego szczepu indeks fagocyтары. Wartość ta dla prób kontrolnych (inkubacja

bez leku) wynosił  $10.2 \pm 1.6$ – $12.24 \pm 1.8$ . Natomiast hodowla pałeczek w obecności ciprofloksacyny zwiększyła ich podatność na fagocytozę, a średnia liczba komórek bakteryjnych, która uległa pochłonięciu przez fagocyty wynosiła  $13.4 \pm 1.4$ – $19.2 \pm 1.5$ . U większości szczepów *Escherichia coli* K1 inkubowanych w obecności amikacyny odnotowano zmiany w ich podatności na fagocytozę jedynie po działaniu leku w stężeniu  $0.5 \times \text{MIC}$ . Wartości indeksu fagocytarnego wahały się od  $12.78 \pm 1.8$  do  $16.22 \pm 1.5$ . Wyniki badań zostały opublikowane:

- **Wojnicz D.**, Tichaczek-Goska D., Cisowska A.: Effect of subinhibitory concentrations of amikacin and ciprofloxacin on the K1 antigen expression and phagocytosis of *Escherichia coli* strains. **Adv.Clin.Exp.Med.** 2010 Vol.19 no.4; s.429-436. IF: 0.103, Pkt. MNiSW/KBN: 13.00

Ówczesne dane na temat wciąż wzrastającej oporności bakterii na antybiotyki i chemioterapeutyki stosowane w leczeniu infekcji dróg moczowych spowodowały, że moje zainteresowania naukowe od roku 2009 skupiły się przede wszystkim na określeniu potencjału antybakteryjnego wybranych preparatów roślinnych. Badania prowadziłam w ramach:

- pracy własnej w latach 2009-2011, projekt nr 1906 „Wpływ wyciągów roślinnych na przeżywalność i zdolność tworzenia biofilmu przez szczepy *Escherichia coli* izolowane z moczu pacjentów z zakażeniami układu moczowego”.

Wyniki tej pracy zostały zawarte w publikacji przedstawionej w postępowaniu habilitacyjnym jako składowa osiągnięcia naukowego (Wojnicz D. i wsp., Urological Research 2012)

- doktorskiego stypendium naukowego przyznanego mi w roku 2011 w ramach projektu “Program rozwoju Akademii Medycznej we Wrocławiu,” realizowanego ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego

Wyniki tych badań zostały zawarte w publikacjach przedstawionych w postępowaniu habilitacyjnym jako składowe osiągnięcia naukowego (Wojnicz D. i wsp., Turkish Journal of Biology 2013; Wojnicz D. i wsp., Folia Microbiologica 2013; Wojnicz D. i wsp., Indian Journal of Medical Research 2015)

Obecnie w redakcji czasopisma *Pharmaceutical Biology*, w recenzji znajduje się artykuł przedstawiający wpływ działania triterpenów pentacyklicznych na gram-dodatnie uropatogenne szczepy *Enterococcus faecalis*:

- **Wojnicz D.**, Tichaczek-Goska D., Kicia M., Hendrich A.B. Protective effect of pentacyclic triterpenes in urinary tract infections.
- pracy statutowej w latach 2011-2013, projekt nr ST-565 „Działanie komercyjne dostępnych ekstraktów roślinnych zawierających antocyjaniny na właściwości powierzchni komórek oraz cechy wirulencji bakterii gram-ujemnych i gram-dodatnich”

Wyniki tej pracy zostały zawarte w publikacji przedstawionej w postępowaniu habilitacyjnym jako składowa osiągnięcia naukowego (Wojnicz D. i wsp., *Phytomedicine* 2012)

Aktualnie w redakcji czasopisma *Plant Foods In Human Nutrition*, w recenzji znajduje się artykuł przedstawiający wpływ działania skoncentrowanego ekstraktu z owoców *Vaccinium macrocarpon* na gram-dodatnie uropatogenne szczepy *Enterococcus faecalis*:

- **Wojnicz D.**, Tichaczek-Goska D., Korzekwa K., Kicia M., Hendrich A.B. Concentrated cranberry extract as a nutritional source preventing urinary tract infections

W latach 2010-2013 współuczestniczyłam w pracach **zespołu prof. dr hab. Janiny Gabrielskiej z Katedry Fizyki i Biofizyki Uniwersytetu Przyrodniczego** we Wrocławiu w ramach projektu nr N N312 263638 „Ochrona błon lipidowych *in vitro* przed wolnymi rodnikami przez naturalne substancje polifenolowe z rodziny *Rosaceae* oraz ich właściwości biologiczne: przeciwzapalne i przeciwbakteryjne”. Część wyników przedstawiono jako doniesienia zjazdowe:

- Kucharska A.Z., **Wojnicz D.**, Cisowska A., Walkowski S., Sokół-Łętowska A., Włoch A., Żbikowska B., Sroka Z., Hendrich A.B., Gabrielska J.: Antibacterial and antioxidant activity of some polyphenol extracts of *Rosaceae* family.

**Analytical methods to study oxidative damage, antioxidants and drugs.** Białystok, 10-13.11.2011.

- Kucharska A.Z., Sokół-Łętowska A., **Wojnicz D.**, Cisowska A., Walkowski S., Dudra A., Żbikowska B., Sroka Z., Hendrich A.B., Gabrielska J.: Przeciwtleniające i przeciwbakteryjne właściwości ekstraktów polifenolowych z owoców róży.

**I Konferencja Naukowa "Róże owocowe w uprawie, przetwórstwie, żywieniu i ochronie zdrowia"**. Warszawa, 8.12.2011.

Współpraca zaowocowała również publikacją:

- Strugała P., Dudra A., Kucharska A.Z., Sokół-Łętowska A., **Wojnicz D.**, Cisowska A., Walkowski S., Sroka Z., Gabrielska J., Hendrich A.B.: Biological activity of the methanol and water extracts of the fruits of anthocyanin-rich plants grown in South-West Poland. **Nat.Prod.Commun.** 2015 Vol.10 no.3; s.467-474. **IF: 0.906, Pkt. MNiSW/KBN: 20.00**

Aktualnie w redakcji czasopisma *Plant Foods In Human Nutrition*, w recenzji znajduje się publikacja, której jestem nie tylko współautorem, ale także autorem korespondencyjnym:

- Hendrich A.B., Strugała P., Dudra A., Kucharska A.Z., Sokół-Łętowska A., **Wojnicz D.**, Cisowska A., Sroka Z., Gabrielska J.: Microbiological, anti-inflammatory and antioxidant activities of fruit extracts of chosen *Rosaceae* family members.

W czerwcu 2015 roku rozpoczęłam współpracę z **Katedrą i Zakładem Farmakognozji Uniwersytetu Wrocławskiego we Wrocławiu**. We wstępnych badaniach określono minimalne stężenia hamujące (MICs) wyciągów roślinnych z bzu czarnego (*Sambucus nigra*) i posłonka pospolitego (*Helianthemum nummularium* subsp. *obscurum*) wobec uropatogennych szczepów *Escherichia coli*. Otrzymane wyniki posłużą w dalszych badaniach do określenia wpływu tych ekstraktów roślinnych na patogenność bakterii gram-dodatnich i gram-ujemnych odpowiedzialnych za zakażenia układu moczowego.

## Plany przyszłych badań

W najbliższej przyszłości zamierzam nadal prowadzić i poszerzać badania dotyczące sposobu i mechanizmów oddziaływania związków pochodzenia naturalnego na uropatogenne szczepy gram-dodatnie i gram-ujemne. Otrzymane przeze mnie wyniki dotyczące antybakteryjnego działania triterpenów pentacyklicznych – kwasu asjatowego i kwasu ursolowego, szczególnie działania anty-biofilmowego, są na tyle obiecujące, że zamierzam je kontynuować.

Kolejne zadanie, które pozwoli na zrozumienie w pełni interakcji między bakteriami i związkami pochodzenia roślinnego, będzie polegało na określeniu molekularnego mechanizmu działania tych związków przede wszystkim na uropatogenne szczepy żyjące w biofilmie. Drobnoustroje wchodzące w skład biofilmu

wykazują różny udział czynników wirulencji w zależności od fazy wzrostu, dlatego też planuję określić poziom transkryptów wybranych przeze mnie genów (metoda RT-PCR) u bakterii poddanych działaniu triterpenów pentacyklicznych na trzech etapach tworzenia biofilmu:

- 1) adherencji pałeczek do powierzchni abiotycznej i ich agregacji,
- 2) dojrzewania biofilmu
- 3) uwalniania komórek bakteryjnych z jego struktury (eradykacji).

Badania te z pewnością przyczynią się do dokładniejszego poznania mechanizmów działania związków roślinnych na strukturę biofilmową w różnych fazach jej tworzenia.



**PEŁNY DOROBEK NAUKOWY OBEJMUJE:**

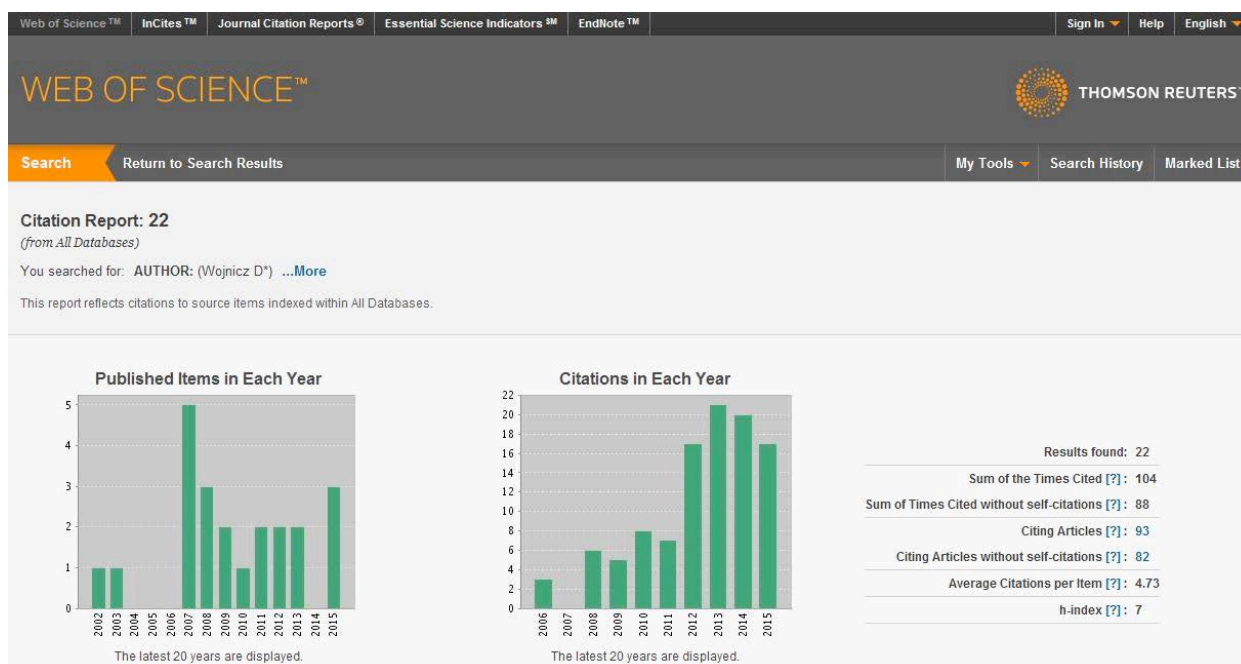
<b>DOROBEK NAUKOWY PRZED UZYSKANIEM STOPNIA DOKTORA NAUK MEDYCZNYCH</b>		<b>n</b>	<b>Impact factor (IF)</b>	<b>Pkt. MNiSW/KBN</b>
<b>PUBLIKACJE NAUKOWE</b>				
Prace oryginalne (łącznie)		5	---	18
• autor korespondencyjny i/lub pierwszy autor		2		
• współautor		3		
Prace pogładowe (łącznie)		4	---	17
• autor korespondencyjny i/lub pierwszy autor		3		
• współautor		1		
<b>PUBLIKACJE PEŁNOTEKSTOWE ŁĄCZNIE</b>		<b>9</b>		<b>35</b>
<b>DONIESIENIA KONFERENCYJNE</b>				
• międzynarodowe		5		
• krajowe		9		
<b>DOROBEK NAUKOWY PO UZYSKANIU STOPNIA DOKTORA NAUK MEDYCZNYCH</b>		<b>n</b>	<b>Impact factor (IF)</b>	<b>Pkt. MNiSW/KBN</b>
<b>PUBLIKACJE NAUKOWE</b>				
Prace oryginalne* (łącznie)		17	16.693	270
• autor korespondencyjny i/lub pierwszy autor		14		
• współautor		3		
Prace pogładowe (łącznie)		3	1.242	31
• autor korespondencyjny i/lub pierwszy autor		2		
• współautor		1		
Prace wskazane jako znaczące osiągnięcie (łącznie)		5	8.585	110
Zgodnie z art. 16 ust. 2 z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595 z późn. zm.)				
• autor korespondencyjny i/lub pierwszy autor		5		
• współautor				
<b>PUBLIKACJE PEŁNOTEKSTOWE ŁĄCZNIE</b>		<b>20</b>	<b>17.935</b>	<b>301</b>
<b>DONIESIENIA KONFERENCYJNE</b>				
• międzynarodowe		3		
• krajowe		7		
<b>ROZDZIAŁY W MONOGRAFIACH, PODRĘCZNIKACH I SKRYPTACH</b>				
• w języku polskim		1		
• w języku angielskim		2		12

\* - w tym prace wskazane jako znaczące osiągnięcie, n - liczba prac

Wykaz publikacji naukowych oraz komunikatów zjazdowych, a także analiza bibliometryczna dorobku naukowego sporządzonego przez Bibliotekę Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu znajdują się w załączniku 3.

**RAPORT CYTOWAŃ WG DANYCH WEB OF SCIENCE**  
z dnia 03.09.2015

<b>Liczba cytowań</b>	<b>104</b>
<b>Liczba cytowań bez autocytowań</b>	<b>88</b>
<b>h-index</b>	<b>7</b>



## 6. DOROBEK DYDAKTYCZNY I POPULARYZATORSKI ORAZ INFORMACJA O WSPÓŁPRACY KRAJOWEJ I MIĘDZYNARODOWEJ

### 6.1. UDZIAŁ W MIĘDZYNARODOWYCH I KRAJOWYCH KONFERENCJACH NAUKOWYCH

#### Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora

#### **Prezentacja plakatu**

#### Konferencje międzynarodowe

1. **Wojnicz D.**, Cisowska A.: The effect of anthocyanins on the biofilm formation by *Escherichia coli* strains. Sepsis 2011 T.4 nr 1; s.143.  
*Polish-Ukrainian Weigl Conference "From microbiology to synthetic biology".*  
Wrocław, May 18-20, 2011.
2. Cisowska A., **Wojnicz D.**: Influence of the pure anthocyanins on some virulence factors of *Escherichia coli* strains. Sepsis 2011 T.4 nr 1; s.100-101.  
*Polish-Ukrainian Weigl Conference "From microbiology to synthetic biology".*  
Wrocław, May 18-20, 2011.
3. Kicia M., **Wojnicz D.**, Sycz Z., Hendrich A.B.: The effect of Żuravit SOS on virulence factors and cardiolipin domains morphology of uropathogenic *Escherichia coli* strains. Sepsis 2011 T.4 nr 1; s.112-113.  
*Polish-Ukrainian Weigl Conference "From microbiology to synthetic biology".*  
Wrocław, May 18-20, 2011.

#### Konferencje krajowe

1. Kaczkowski H., **Wojnicz D.**, Sarowska J., Rabczyński J., Woytoń H.: Występowanie pełzaka dziąsłowego (*E. gingivalis*) i rzęsiotka policzkowego (*T. tenax*) w przewlekłym zapaleniu zatoki szczękowej.  
*VI Kongres Polskiego Towarzystwa Chirurgii Jamy Ustnej i Chirurgii Szczękowo-Twarzowej "Polska Chirurgia Szczękowo-Twarzowa - gdzie jesteśmy, dokąd zmierzamy?".* Zamek Książ k/Wałbrzycha, 27-29 września 2007.
2. **Wojnicz D.**, Korzekwa K., Jaworska A.: Aktywność bakteriobójcza surowicy wobec pałeczek *Pseudomonas aeruginosa* izolowanych z popłuczyn oskrzelikowo-pęcherzykowych.

- XXVI Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów "Drobnoustroje - wyzwania i nadzieje". Szczecin, 4-7 września 2008.
3. Korzekwa K., **Wojnicz D.**: Tworzenie biofilmu przez szczepy *Pseudomonas aeruginosa* izolowane z popłuczyn oskrzelikowo-pęcherzykowych.  
XXVI Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów "Drobnoustroje - wyzwania i nadzieje". Szczecin, 4-7 września 2008.
4. Kucharska A.Z., **Wojnicz D.**, Cisowska A., Walkowski S., Sokół-Łętowska A., Włoch A., Żbikowska B., Sroka Z., Hendrich A.B., Gabrielska J.: Antibacterial and antioxidant activity of some polyphenol extracts of *Rosaceae* family.  
„Analytical methods to study oxidative damage, antioxidants and drugs”. Białystok, 10-13 listopada 2011.
5. Kucharska A.Z., Sokół-Łętowska A., **Wojnicz D.**, Cisowska A., Walkowski S., Dudra A., Żbikowska B., Sroka Z., Hendrich A.B., Gabrielska J.: Przeciwutleniające i przeciwbakteryjne właściwości ekstraktów polifenolowych z owoców róży.  
*I Konferencja Naukowa "Róże owocowe w uprawie, przetwórstwie, żywieniu i ochronie zdrowia"*. Warszawa, 8 grudnia 2011.
6. **Wojnicz D.**, Sycz Z., Walkowski S., Gabrielska J., Włoch A., Kucharska A.Z., Sokół-Łętowska A., Hendrich A.B.: Antyoksydacyjne właściwości ekstraktu z owoców żurawiny wielkoowocowej i jego wpływ na czynniki wirulencji uropatogennych szczepów *Escherichia coli*.  
XXVII Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów "Drobnoustroje bez granic". Lublin, 5-8 września 2012.
7. Tichaczek-Goska D., **Wojnicz D.**, Kicia M.: Wpływ wyciągów roślinnych stosowanych w polskiej medycynie ludowej na czynniki wirulencji i formowanie biofilmu przez uropatogenny szczep *Escherichia coli*.  
XXVII Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów "Drobnoustroje bez granic". Lublin, 5-8 września 2012.

Przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora

**Prezentacja plakatowa**

Konferencje międzynarodowe

1. **Wojnicz D.**, Jankowski S.: The influence of subinhibitory concentrations of amikacin and ciprofloxacin on the morphology of uropathogenic *Escherichia coli* strains.  
*International Weigl Conference "Microorganisms in pathogenesis and their drug resistance"*. Lviv (Ukraine), 11-14 September 2003.
2. Sarowska J., **Wojnicz D.**, Kaczkowski H., Jankowski S.: The occurrence of *Entamoeba gingivalis* in soft tissues and face skeleton diseases in patients hospitalized in Department of Maxillofacial Surgery Medical University of Wrocław.  
*International Weigl Conference "Microorganisms in pathogenesis and their drug resistance"*. Lviv (Ukraine), 11-14 September 2003.
3. **Wojnicz D.**, Cisowska A., Jankowski S.: The effect of sub-inhibitory concentration (sub-MIC) of amikacin and ciprofloxacin on the loss of capsular antigen K1 by *Escherichia coli* strains. Clin.Microbiol.Infect. 2004 Vol.10 suppl.3; s.109 poz.P501  
*14th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. Prague (Czech Republic), 1-4 May 2004.
4. **Wojnicz D.**: The effect of subinhibitory concentrations (sub-MICs) of amikacin and ciprofloxacin on adherence of P-fimbriated *Escherichia coli* strains to human epithelial cells. Clin.Microbiol.Infect. 2004 Vol.10 suppl.3; s.336 poz.P1217  
*14th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. Prague (Czech Republic), 1-4 May 2004.
5. **Wojnicz D.**, Sarowska J., Kozłowski Z.: The occurrence of *Entamoeba gingivalis* in patients with periodontal diseases. Clin.Microbiol.Infect. 2004 Vol.10 suppl.3; s.150 poz.P636  
*14th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. Prague (Czech Republic), 1-4 May 2004.

Konferencje krajowe

1. Lewczyk E., Drulis-Kawa Z., **Wojnicz D.**, Doroszkiewicz W., Jankowski S.: Sensitivity of *Enterobacteriaceae* family strains, nonfermentative strains and gram-positive cocci isolated from pus to some antibiotics. *Med.Sci.Monit.* 2000 Vol.6 suppl.3; s.75 abstr.B-5/P-10  
*XXIV Congress of the Polish Society of Microbiologists.* Białystok, 12-15 September, 2000.
2. Cisowska A., Korzekwa K., Lewczyk E., **Wojnicz D.**, Jankowski S., Doroszkiewicz W.: Ocena wrażliwości drobnoustrojów wyizolowanych z zakażeń układu moczowego (ZUM) u dzieci na antybiotyki.  
*V Sympozjum Polskiego Towarzystwa Nefrologii Dziecięcej.* Białowieża 24-25 maja 2002.
3. **Wojnicz D.**, Cisowska A., Jankowski S., Doroszkiewicz W.: Wpływ stężeń podprogowych amikacyny na hydrofobowość powierzchni pałeczek *Escherichia coli* izolowanych od dzieci z zakażeniami układu moczowego (ZUM).  
*V Sympozjum Polskiego Towarzystwa Nefrologii Dziecięcej.* Białowieża 24-25 maja 2002.
4. Kaczkowski H., Sarowska J., **Wojnicz D.**, Adamowska-Pajor M.: Występowanie pełzaka dziąsłowego (*Entamoeba gingivalis*) w schorzeniach tkanek miękkich i kośćca twarzy w materiale Kliniki Chirurgii Szczękowo-Twarzowej AM we Wrocławiu = *Entamoeba gingivalis* prevalence in soft tissues and face skeleton diseases based on the material of Maxillofacial Surgery Dept. of Wrocław University of Medicine.  
*IV Kongres Polskiego Towarzystwa Chirurgii Jamy Ustnej i Chirurgii Szczękowo-Twarzowej.* Białystok, 22-24 maja 2003.
5. Sarowska J., **Wojnicz D.**, Kaczkowski H., Adamowska-Pajor M.: Zараżenie pełzakiem dziąsłowym (*Entamoeba gingivalis*) jako niedoceniony problem kliniczny.  
*XVI Zjazd Polskiego Towarzystwa Epidemiologów i Lekarzy Chorób Zakaźnych* "Współczesne problemy chorób zakaźnych". Białystok, 5-7 czerwca 2003. Streszczenia; s.92 poz.D27

6. Kozłowski Z., Konopka T., **Wojnicz D.**, Sarowska J.: Występowanie *Entamoeba gingivalis* u pacjentów z przewlekłym zapaleniem przyzębia. Czas.Stomatol. 2004 T.57 nr 4 supl.; s.129  
*Jubileuszowy X Kongres Stomatologów Polskich. Wrocław, 22-24 kwietnia 2004.*
7. Cisowska A., Bugła G., **Wojnicz D.**, Jankowski S., Doroszkiewicz W.: Udział białek błony zewnętrznej (OMP) w determinowaniu podatności szczepów *Escherichia coli*, produkujących  $\alpha$ -hemolizynę (HlyA+) i ich form HlyA-, na bakteriobójcze działanie surowicy pępowinowej. Post.Mikrobiol. 2004 T.43 supl.1; s.151 poz.P-93  
*XXV Jubileuszowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów. Bydgoszcz, 23-25 września 2004.*
8. **Wojnicz D.**, Jankowski S.: Wpływ stężeń podprogowych (SUB-MIC) amikacyny i ciprofloksacyny na syntezę alfa-hemolizyny przez szczepy *Escherichia coli*. Post.Mikrobiol. 2004 T.43 supl.1; s.150 poz.P-92  
*XXV Jubileuszowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów. Bydgoszcz, 23-25 września 2004.*

### Prezentacja ustna

1. Sarowska J., **Wojnicz D.**, Kaczkowski H.: The preliminary report concerning occurrence of *Entamoeba gingivalis* in patients with periodontal diseases hospitalized in Department of Maxillo-Facial Surgery Medical University of Wrocław. Wiad.Parazytol. 2003 T.49 nr 1; s.98  
*XIV Wroclawska Konferencja Parazytologiczna pt. "Parazytologia na przełomie XX/XXI wieku", 18 października 2002.*
2. **Wojnicz D.**: Wstępne badania nad wpływem stężeń podprogowych amikacyny i ciprofloksacyny na występowanie białek powierzchniowych u *Escherichia coli*  
*Forum Mikrobiologów Wrocławskich. Wrocław 22 kwietnia 2005.*

#### 6.1.1. UDZIAŁ W ORGANIZACJI KONFERENCJI KRAJOWEJ

Jako pracownik Katedry i Zakładu Biologii i Parazytologii Lekarskiej uczestniczyłam w organizacji Konferencji KOBAM-2000, Wrocław, 10 czerwca 2000. Także w części naukowej Konferencji wygłosiłam referat pt.: „Kolektyna – MBL - i jej znaczenie w odporności przeciwwzakaźnej”

#### 6.2. CZŁONKOSTWO W MIĘDZYNARODOWYCH I KRAJOWYCH ORGANIZACJACH ORAZ TOWARZYSTWACH NAUKOWYCH

Polskie Towarzystwo Mikrobiologiczne – od 2000 roku, członek.

W latach 2009-2012 członek Komisji Rewizyjnej w Oddziale Wrocławskim Polskiego Towarzystwa Mikrobiologicznego.

#### 6.3. WSPÓŁPRACA NAUKOWA Z INSTYTUCJAMI, ORGANIZACJAMI I TOWARZYSTWAMI NAUKOWYMI W KRAJU I ZA GRANICĄ

1. W latach 2000-2008 współpraca z Zakładem Mikrobiologii Instytutu Genetyki i Mikrobiologii Uniwersytetu Wrocławskiego oraz Laboratorium Mikrobiologicznym Dolnośląskiego Centrum Pediatrycznego im. J. Korczaka we Wrocławiu.
2. W latach 2003-2007 współpraca z Kliniką Chirurgii Szcękowo-Twarzowej Akademii Medycznej (Uniwersytetu Medycznego) we Wrocławiu.
3. W latach 2003-2007 współpraca z Katedrą Periodontologii Akademii Medycznej (Uniwersytetu Medycznego) we Wrocławiu.
4. W latach 2003-2007 współpraca z Katedrą i Kliniką Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku Akademii Medycznej (Uniwersytetu Medycznego) we Wrocławiu.
5. Od 2009 r. współpraca z Pracownią Mikrobiologiczną Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego im. Jana Mikulicza-Radeckiego we Wrocławiu.
6. W latach 2010-2013 współpraca z Katedrą Fizyki i Biofizyki Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu.
7. Od 2015 roku współpraca z Katedrą i Zakładem Farmakognozji Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.

#### 6.4. RECENZOWANIE MANUSKRYPTÓW PUBLIKACJI W CZASOPISMACH MIĘDZYNARODOWYCH LUB KRAJOWYCH

Jestem autorką **57** recenzji prac naukowych dla czasopism:

1. **Advances In Microbiology** – manuskrypt nr 2015\_2270522
2. **African Journal of Microbiology Research** – manuskrypt nr 2014\_AJMR\_6912; 2014\_AJMR\_7034; 2014\_AJMR\_7041; 2014\_AJMR\_7045; 2014\_AJMR\_7001; 2014\_AJMR\_7057; 2014\_AJMR\_7068; 2014\_AJMR\_7156; 2015\_AJMR\_7452
3. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology** – manuskrypt nr AJPP-19.05.15-4366
4. **American Chemical Science Journal** – manuskrypt nr 2015\_ACSJ\_20632



5. **American Journal of Experimental Agriculture** – manuskrypt nr 2015\_AJEA\_18262
6. **Annual Research & Review in Biology** – manuskrypt nr 2013\_ARRB\_7166; 2014\_ARRB\_12827; 2014\_ARRB\_11270
7. **Antonie van Leeuwenhoek Journal of Microbiology** – manuskrypt nr 2013\_ANTO-D-13-00469
8. **Brazilian Journal of Microbiology** – manuskrypt nr BJM\_2013\_1172
9. **British Journal of Medicine and Medical Research** – manuskrypt nr 2014\_BJMMR\_15115; 2015\_BJMMR\_17123; 2015\_BJMMR\_16976; 2015\_BJMMR\_19726
10. **British Journal of Pharmaceutical Research** – manuskrypt nr 2013\_BJPR\_3200; 2014\_BJPR\_13491; 2014\_BJPR\_12529; 2014\_BJPR\_12605; 2015\_BJPR\_20057; 2015\_BJPR\_20316
11. **British Microbiology Research Journal** – manuskrypt nr 2014\_BMRJ\_15108; 2015\_BMRJ\_16696; 2015\_BMRJ\_18922; Ms\_BMRJ\_20208
12. **Current Pharmaceutical Biotechnology** – manuskrypt nr 2014\_IT S/04/PD-02
13. **European Journal of Medicinal Plants** – manuskrypt nr 2015\_EJMP\_16553; 2015\_EJMP\_16237; 2015\_EJMP\_17429; 2015\_EJMP\_20489
14. **International Journal of Biochemistry Research & Review** – manuskrypt nr 2015\_IJBcRR\_17481
15. **International Journal of Nanomedicine** – manuskrypt nr 2014\_59834
16. **International Journal of Plant & Soil Science** – manuskrypt nr 2014\_IJPSS\_12354
17. **International Journal of TROPICAL DISEASE & Health** – manuskrypt nr 2015\_IJTDH\_17841; 2015\_IJTDH\_21423
18. **Journal of Global Agriculture and Ecology** – manuskrypt nr 2015\_JOGAE\_2194
19. **Journal of Advances in Biology & Biotechnology** – manuskrypt nr 2015\_JABB\_20787
20. **Journal of Advances in Medical and Pharmaceutical Sciences** – manuskrypt nr 2015\_JAMPS\_20550
21. **Journal of Basic and Applied Research International** – manuskrypt nr 2015\_JOBARI\_1578; 2015\_JOBARI\_1919; 2015\_JOBARI\_2193
22. **Journal of Biology and Nature** – manuskrypt nr 2015\_JOBAN\_1035; 2015\_JOBAN\_1326; 2015\_JOBAN\_1950

23. **Journal of International Research in Medical and Pharmaceutical Sciences** – manuskrypt nr 2015\_JIRMEPS\_816
24. **Journal of Medicinal Plants Research** – manuskrypt nr 2013\_JMPR-11-1226
25. **Journal of Public Health and Epidemiology** – manuskrypt nr JPHE-07.02.15-0716; JPHE-23.06.15-0754
26. **Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology** – manuskrypt nr PCBMB\_2262
27. **Translational Medicine**– manuskrypt nr TMCR-2013-15700

#### 6.5. RECENZJA PROJEKTÓW BADAWCZYCH

**2012 r.** – recenzja/ocena projektu badawczego mgr Lucyny Jabłońskiej „Wpływ subinhibicyjnych stężeń antybiotyków na wirulencję bakterii z rodzaju *Aeromonas*”, Wydział Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu.

#### 6.6. KIEROWANIE MIĘDZYNARODOWYMI LUB KRAJOWYMI PROJEKTAMI BADAWCZYMI ORAZ UDZIAŁ W TAKICH PROJEKTACH

Granty ministerialne (NCN):

##### **wykonawca:**

1. projekt nr N N312 263638 (lata 2010-2013) „Ochrona błon lipidowych *in vitro* przed wolnymi rodnikami przez naturalne substancje polifenolowe z rodziny *Rosaceae* oraz ich właściwości biologiczne: przeciwzapalne i przeciwbakteryjne”, kierownik projektu – prof. dr hab. Janina Gabrielska

Granty w ramach badań własnych Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu:

##### **kierownik:**

1. projekt nr 308 (lata 2002-2003) „Wpływ dawek podprogowych wybranych antybiotyków na ich parametry farmakodynamiczne oraz na ekspresję pewnych czynników wirulencji szczepów *Escherichia coli* izolowanych z zakażeń układu moczowego (ZUM)”
2. projekt nr 456 (lata 2003-2005) „Występowanie *Trichomonas tenax* i *Entamoeba gingivalis* w wybranych zmianach patologicznych w obrębie jamy ustnej”
3. projekt nr 1906 (lata 2009-2011) „Wpływ wyciągów roślinnych na przeżywalność i zdolność tworzenia biofilmu przez szczepy *Escherichia coli* izolowane z moczu pacjentów z zakażeniami układu moczowego”

**wykonawca:**

1. projekt nr 764 (lata 2001-2003) „Lityczne działanie dopełniacza na bakterie z uszkodzoną ścianą komórkową przez reaktywne formy tlenu”, kierownik zadania – prof. dr hab. Stanisław Jankowski
2. projekt nr 4/PBmn (lata 2011-2013) „Analiza wpływu czynników zaburzających podziały komórkowe na domeny kardiolipinowe w komórkach bakterii *E. coli* oraz ich udział w powstawaniu SOS i komórek typu persisters”, kierownik zadania – dr Marta Kicia

**Zadania badawcze w ramach działalności statutowej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu:****kierownik:**

1. zadanie zrealizowane w latach 2001-2003 „Wpływ podprogowych dawek wybranych antybiotyków na różne czynniki wirulencji uropatogennych szczepów *Escherichia coli*”
2. zadanie zrealizowane w latach 2004-2006 „Współdziałanie dopełniacza, amikacyny i ciprofloksacyny w reakcji bakteriobójczej”
3. zadanie nr ST-98 zrealizowane w latach 2007-2009 „Wpływ dawek subinhibicyjnych wybranych antybiotyków na tworzenie antygenów otoczkowych u szczepów *Escherichia coli*”

**wykonawca:**

1. zadanie nr ST-99 (lata 2008-2010) „Bakteriobójczość białek układu dopełniacza wobec bakterii posiadających mannan w lipopolisacharydzie”, kierownik zadania – dr Dorota Tichaczek-Goska
2. zadanie nr ST-318 (2008 rok) „Elektroforetyczny rozdział białek błony zewnętrznej (OMP) szczepów *Salmonella* ESBL(-) i ich transkoniugantów ESBL(+)”, kierownik zadania – dr Jolanta Sarowska
3. zadanie nr ST-473 (lata 2010-2012) „Mikrosporydioza u pacjentów z immunosupresją”, kierownik zadania – dr Maria Wesołowska
4. zadanie nr ST-565 (lata 2011-2013) „Działanie komercyjne dostępnych ekstraktów roślinnych zawierających antocyjaniny na właściwości powierzchni komórek oraz cechy wirulencji bakterii gram-ujemnych i gram-dodatnich”, kierownik zadania – prof. dr hab. Andrzej B. Hendrich

**6.7. MIĘDZYNARODOWE I KRAJOWE NAGRODY ZA DZIAŁALNOŚĆ NAUKOWĄ ALBO ARTYSTYCZNĄ**

- **2007** – Nagroda Zespołowa JM Rektora Akademii Medycznej we Wrocławiu za ważne i twórcze osiągnięcia w pracy dydaktycznej (za rozdział „*The Trematodes*” w podręczniku przeznaczonym dla studentów anglojęzycznych „*Parasitology for medical students*” pod red. Alicji Buczek, Lublin 2006, za współautorstwo skryptu “*Medical biology for students Faculty of Medicine and Faculty of Dentistry English Division*” pod red. A. Cisowskiej, AM, Wrocław 2006)
- **2008** – Nagroda Indywidualna II° Rektora Akademii Medycznej we Wrocławiu za ważne i twórcze osiągnięcia w pracy naukowej (za rozprawę doktorską)
- **2011** – Stypendium naukowe dla młodych doktorów finansowane ze środków projektu „Program rozwoju Akademii Medycznej we Wrocławiu”
- **2014** – Nagroda Indywidualna I° Stopnia Rektora Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu za ważne i twórcze osiągnięcia w pracy naukowej (za cykl prac, dotyczących wpływu ekstraktów roślinnych na czynniki wirulencji uropatogennych szczepów *Escherichia coli*, opublikowanych w 2012 roku)

**6.8. OSIĄGNIĘCIA DYDAKTYCZNE I W ZAKRESIE POPULARYZACJI NAUKI LUB SZTUKI**

Prowadzenie zajęć dydaktycznych (seminaria, ćwiczenia, wykłady) dla studentów Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu na studiach stacjonarnych na Wydziale: Lekarskim, Lekarsko-Stomatologicznym, Farmaceutycznym z O. Analityki Medycznej, Nauk o Zdrowiu.

Prowadzenie zajęć dydaktycznych (seminaria, ćwiczenia) w języku angielskim dla studentów English Division Wydziału Lekarskiego i Lekarsko-Stomatologicznego.

1. Wydział Lekarski - kierunek lekarski - I rok – przedmiot: Biologia Molekularna
2. Wydział Lekarsko-Stomatologiczny - kierunek lekarsko-stomatologiczny - I rok- przedmiot: Biologia Molekularna, Genetyka
3. Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej – kierunek Analityka Medyczna – III rok – przedmiot: Diagnostyka Parazytologiczna
4. Wydział Nauk o Zdrowiu – kierunek Fizjoterapia – I rok; kierunek Dietetyka – I rok
5. English Division – Faculty of Medicine, Faculty of Dentistry – I rok, przedmiot Molecular Biology

Kursy podyplomowe

- **1999** – kurs podyplomowy dla absolwentów Wydziału Farmacji pt.: „Aseptyczna produkcja leków recepturowych”, wykładowca
- **2001-2004** – kurs podyplomowy dla lekarzy, stomatologów i farmaceutów pt.: „Wzajemne adaptacje pasożytów i żywicieli w trakcie kształtowania się układów pasożyt-żywiciel”, wykładowca
- **2007-2010** – kurs z Parazytologii Klinicznej dla słuchaczy Studiów Podyplomowych Analizy Medycznej, wykładowca
- **2007-2011** – kurs dla lekarzy specjalizujących się w chorobach zakaźnych, chorobach wewnętrznych, pediatrii, medycynie rodzinnej pt.: „Wybrane zagadnienia z zakresu parazytologii klinicznej (biologia, epidemiologia, diagnostyka, klinika, profilaktyka i leczenie)”, wykładowca

Kursy dla studentów Wydziału Lekarskiego i Lekarsko-Stomatologicznego English Division

- **2003-2013** wrzesień – kurs przygotowawczy z biologii dla studentów zagranicznych (anglojęzycznych) przyjętych na I rok studiów. Tematyka prowadzonych przeze mnie zajęć: „Mutagens. Types of point mutations and their consequences”, „Structural chromosomal aberrations”, „Numerical chromosomal aberrations”.

Rozdziały w monografiach, podręcznikach i współautorstwo skryptów:

1. Autor rozdziału „*The Trematodes*” w podręczniku przeznaczonym dla studentów anglojęzycznych „*Parasitology for medical students*” pod red. A. Buczek, Lublin 2006
2. Współautor skryptu „*Medical biology for students Faculty of Medicine and Faculty of Dentistry English Division*” pod red. A. Cisowskiej, AM, Wrocław 2006

Działalność popularyzująca naukę:

1. Czynny udział w Dolnośląskim Festiwalu Nauki pod patronatem Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (2001-2014)
  - **IV DFN 2001** – „O pasożytach z tropików oraz o tym, dlaczego brudne ręce są przyczyną chorób pasożytniczych” (20-22.09.2001)
  - **V DFN 2002** – „Podróż dookoła świata, a geohelminy” (19-22.09.2002)

- **VII DFN 2004** – „Pasożyty wokół nas”, „Pasożyt jako nieproszony towarzysz życia” (17-24.09.2004)
  - **VIII DFN 2005** – „Czy aby zdrowym być trzeba ręce myć?”, „Jakie pasożyty żyją wokół nas?”, „O pasożytach z dalekich krajów”, „Genetyczne łamigłówki – quiz” (18-20.09.2005)
  - **IX DFN 2006** „Czy aby zdrowym być trzeba ręce myć?”, „Przyjrzyj się z bliska pasożytom”, „Jakie pasożyty żyją wokół nas?”, „Spotkanie z pasożytami”, „O pasożytach z dalekich krajów”, „Poznaj pasożyty z krajów tropikalnych”, „Pasożyt jako nieproszony towarzysz naszego życia - quiz”, „Maraton Przyrodniczy” (18-21.09.2006)
  - **XI DFN 2008** – „Pasożyty w otoczeniu dziecka”, „Przyjrzyj się z bliska pasożytom”, „Maraton Przyrodniczy”, „O pasożytach, którymi możemy zarazić się od zwierząt”, „Quiz parazytologiczny” (19-24.09.2008)
  - **XII DFN 2009** – „Tajemne życie pasożytów człowieka”, „Mali goście – duży kłopot. Co z nim zrobić?”, „Pasażerowie na gapę”, „Maraton Przyrodniczy”, „Quiz parazytologiczny”, „Kierunek natura – warsztaty przyrodnicze” (18-23.09.2009)
  - **XIII DFN 2010** – „Pasażerowie na gapę”, „Mali goście – duży kłopot. Co z nim zrobić?”, „Maraton Przyrodniczy”, „Mikrotowarzysze międzynarodowych podróży”, „Quiz parazytologiczny”, „Różnorodność natury – warsztaty przyrodnicze” (17-22.09.2010)
  - **XIV DFN 2011** – „Pasażerowie na gapę”, „Przyjrzyj się z bliska pasożytom”, „Maraton Przyrodniczy”, „Mali goście – duży kłopot.”, „Pasożyty w otoczeniu dziecka”, „Różnorodność natury – warsztaty przyrodnicze”, „Pasożyt jako towarzysz międzynarodowych podróży”, „Quiz parazytologiczny” (16-21.09.2011)
  - **XV DFN 2012** – „Od pantofelka do tarantuli – maraton przyrodniczy”, „Pasożytom wstęp wzbroniony!”, „Uważaj na pasożyty!”, „Świat pasożytów nie tylko pod mikroskopem – warsztaty przyrodnicze”, „Pasożyt – wierny towarzysz tropikalnych podróży”, „Niepożądani goście” (21-26.09.2012)
  - **XVI DFN 2013** – „Nieproszeni goście w naszym organizmie”, „Mali goście – duży kłopot”, „Pasożyty w otoczeniu dziecka”, „Pasożyt jako towarzysz międzynarodowych podróży”, „Przyjrzyj się z bliska pasożytom”, „Od pantofelka do tarantuli – maraton przyrodniczy”, „Świat pasożytów nie tylko pod mikroskopem – warsztaty przyrodnicze”, „Wędrowki włosogłówek – quiz parazytologiczny” (20-25.09.2013)
  - **XVII DFN 2014** – „Już dziś pomyśl o swoim zdrowiu – czyli jak ustrzec się pasożytów”, „Pomyśl zanim coś zjesz – czyli jak uniknąć zarażenia pasożytami”, „Zrozumieć pasożyta”, „Pasożyty – organizmy rozumne czy nierozumne?”, „Polowanie na pantofelka – maraton przyrodniczy dla bystrzaków”, „Czy wiesz co skacze, fruwa i pełza wokół ciebie?” „Mikrotowarzysze międzynarodowych podróży”, „Wędrowki włosogłówek – quiz parazytologiczny” (19-24.09.2014)
2. Prowadzenie wykładów i zajęć warsztatowych dla uczniów szkół licealnych, poszerzających wiedzę na temat chorób pasożytniczych człowieka.

6.9. OPIEKA NAUKOWA NAD STUDENTAMI I DOKTORANTAMI W CHARAKTERZE OPIEKUNA NAUKOWEGO  
LUB PROMOTORA POMOCNICZEGO

Promotor prac magisterskich

- **2008** – Małgorzata Dziergas „Efekt PAE (*Postantibiotic Effect*) oraz PASME (*Postantibiotic Sub-MIC Effect*) amikacyny i ciprofloksacyny wobec szczepów *Escherichia coli*”
- **2009** – Krzysztof Krzysztoforski „Wpływ subinhibicyjnych stężeń ciprofloksacyny, amikacyny i kolistyny na zdolność do syntezy fimbrii curli oraz tworzenia biofilmu przez uropatogenne szczepy *Escherichia coli*”
- **2010** – Anna Tessmann „Wpływ form glikozydowych antocyjanidyny na wybrane cechy chorobotwórczości uropatogennych pałeczek *Escherichia coli*”
- **2013** – Paweł Chwedczuk „Wpływ kwasu asjatowego i kwasu ursolowego na proces tworzenia biofilmu przez szczepy *Enterococcus faecalis*”
- **2014** – Emilia Dzik „Wpływ wyciągów roślinnych na wirulencję i przeżywalność szczepów *Enterococcus faecalis*”
- **2015** – Anna Bednarek „Wpływ ciprofloksacyny i wyciągów roślinnych na wzrost uropatogennych szczepów *Escherichia coli*”

Opiekun naukowy prac magisterskich

- **2005** – Aleksandra Zimna „Współdziałanie amikacyny i ciprofloksacyny z normalną surowicą pępowinową w procesie bakteriobójczym wobec pałeczek *Escherichia coli*”
- **2007** – Anna Jaworska „Aktywność bakteriobójcza surowicy wobec pałeczek *Pseudomonas aeruginosa* izolowanych z popłuczyn oskrzelikowo-pęcherzykowych pacjentów ze szpitalnym zapaleniem płuc”
- **2008** – Agnieszka Pietraszko „Wpływ stężeń podprogowych amikacyny i ciprofloksacyny na obecność otoczkowego antygeny K1 występującego w komórkach *Escherichia coli*”
- **2011** – Zuzanna Sycz „Badanie oddziaływania antocyjanin na wybrane cechy wirulencji uropatogennych szczepów *Escherichia coli* oraz na błony komórek bakteryjnych”
- **2013** – Małgorzata Kujawa „Wpływ wybranych triterpenów pentacyklicznych na czynniki zjadliwości paciorkowców kałowych izolowanych z moczu pacjentów z zakażeniami układu moczowego”
- **2013** – Maria Obuchowicz „Wpływ ekstraktu z żurawiny wielkoowocowej na wybrane cechy wirulencji bakterii *Enterococcus faecalis*”

Recenzent prac magisterskich

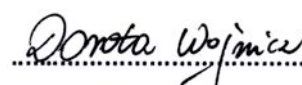
- **2008** – Anna Więzik „Właściwości hydrofobowe szczepów *Escherichia coli* z otoczkowym antygenem K1 oraz szczepów nie posiadających tego antygeny”
- **2009** – Marta Proń „Infekcje pasożytnicze u dzieci poddanych allogenicznej transplantacji komórek oraz pacjentów dorosłych z wtórnymi niedoborami odporności”
- **2009** – Magdalena Olichwer „Wpływ lipopolisacharydu izolowanego ze szczepu *Escherichia coli* 08IW728 na bakteriobójczą aktywność normalnej surowicy ludzkiej”
- **2010** – Aleksandra Szczebłowska „Porównanie skuteczności mikroskopowych metod diagnostycznych stosowanych do wykrywania obecności oportunistycznych pierwotniaków”
- **2014** – Marta Ciapierzyńska „Wpływ wyciągów roślinnych na podatność pałeczek *Escherichia coli* na bakteriobójcze działanie normalnej surowicy ludzkiej”

Promotor prac licencjackich

- **2007** – Maria Król „Rola biofilmu bakteryjnego w patogenezie infekcji wywołanych przez szczepy *Pseudomonas aeruginosa*”
- **2008** – Anna Tessmann „Pasożyty przewodu pokarmowego człowieka – aktualny stan wiedzy”
- **2009** – Katarzyna Kowalska „Czynniki wirulencji uropatogennych szczepów *Escherichia coli* biorące udział w tworzeniu biofilmu”

6.10. PRACA NA RZECZ UCZELNI

- **2002** – Aktywny udział w procesie akredytacji Akademii Medycznej we Wrocławiu
- **2002** – Udział w Komisji Rekrutacyjnej oceniającej zasadność zastrzeżeń do pytań egzaminacyjnych kandydatów na I rok studiów w Akademii Medycznej we Wrocławiu
- **od 2008 roku do chwili obecnej** – Funkcja sekretarza publicznych obron doktorskich przeprowadzanych na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu (udział w 23 obronach)

  
.....  
Podpis Wnioskodawcy



## Contents

<b>1. NAME AND SURNAME</b> .....	<b>2</b>
<b>2. POSSESSED DIPLOMAS, SCIENTIFIC/ARTISTIC DEGREES – WITH THE INDICATION OF THE NAME, PLACE AND YEAR IN WHICH THEY WERE ACQUIRED</b> .....	<b>2</b>
<b>3. INFORMATION ABOUT PREVIOUS EMPLOYMENT IN SCIENTIFIC/ARTISTIC INSTITUTIONS</b> .....	<b>2</b>
<b>4. INDICATION OF SCIENTIFIC ACHIEVEMENT RESULTING FROM ART. 16 PAR. 2 OF THE ACT OF 14 MARCH 2003 ON ACADEMIC DEGREES AND TITLES AS WELL AS DEGREES AND TITLES WITHIN THE SCOPE OF ART (JOURNAL OF LAWS OF 2003, No. 65, ITEM 595, AS AMENDED)</b> .....	<b>3</b>
4.1. <i>TITLE OF SCIENTIFIC/ARTISTIC ACHIEVEMENT</i> .....	<b>3</b>
4.2. <i>LIST OF PUBLICATIONS REPRESENTING SCIENTIFIC ACHIEVEMENTS LISTED IN ART. 16 PAR. 2 OF THE ACT (AUTHOR/AUTHORS, TITLE/TITLES OF PUBLICATIONS, YEAR OF PUBLICATION, PUBLISHER)</i> .....	<b>3</b>
4.3. <i>DESCRIPTION OF THE SCIENTIFIC AIM OF THE STUDY AND RESULTS OBTAINED WITH DESCRIPTION OF THEIR POTENTIAL APPLICATION</i> .....	<b>5</b>
<b>5. DESCRIPTION OF OTHER SCIENTIFIC AND RESEARCH ACHIEVEMENTS</b> .....	<b>22</b>
<b>6. TEACHING AND POPULARIZING ACHIEVEMENTS, INFORMATION ABOUT NATIONAL AND INTERNATIONAL COOPERATION</b> .....	<b>35</b>
6.1. <i>PARTICIPATION IN INTERNATIONAL AND NATIONAL SCIENTIFIC CONFERENCES</i> .....	<b>35</b>
6.1.1. <i>PARTICIPATION IN THE ORGANIZATION OF NATIONAL CONFERENCE</i> .....	<b>40</b>
6.2. <i>MEMBERSHIP IN INTERNATIONAL AND NATIONAL ORGANIZATIONS AND SCIENTIFIC SOCIETIES</i> ....	<b>41</b>
6.3. <i>SCIENTIFIC COOPERATION WITH INSTITUTIONS, ORGANIZATIONS AND SCIENTIFIC SOCIETIES IN THE COUNTRY AND ABROAD</i> .....	<b>41</b>
6.4. <i>REVIEWS OF PUBLICATIONS SUBMITTED TO INTERNATIONAL AND LOCAL JOURNALS</i> .....	<b>41</b>
6.5. <i>REVIEW OF RESEARCH PROJECTS</i> .....	<b>43</b>
6.6. <i>PARTICIPATION IN SCIENTIFIC PROJECTS</i> .....	<b>43</b>
6.7. <i>INTERNATIONAL AND NATIONAL AWARDS OBTAINED FOR SCIENTIFIC OR ARTISTIC ACHIEVEMENTS</i> .....	<b>45</b>
6.8. <i>TEACHING ACHIEVEMENTS AND POPULARIZATION ACTIVITIES</i> .....	<b>45</b>
6.9. <i>SUPERVISION OF STUDENTS' PROJECTS</i> .....	<b>48</b>
6.10. <i>WORK FOR WROCLAW MEDICAL UNIVERSITY</i> .....	<b>49</b>

**1. NAME AND SURNAME:** Dorota Wojnicz

**2. POSSESSED DIPLOMAS, SCIENTIFIC/ARTISTIC DEGREES – WITH THE INDICATION OF THE NAME, PLACE AND YEAR IN WHICH THEY WERE ACQUIRED**

- **18.11.2005** – Ph.D. in the field of medical biology obtained at the Faculty of Medicine of the Silesian Piasts Medical University in Wrocław, on the basis of Ph.D. thesis entitled *“The effect of subinhibitory concentrations of amikacin and ciprofloxacin on the properties of Escherichia coli rods isolated from the urine of children with urinary tract infections”*, promoter Prof. Dr hab. Stanisław Jankowski
- **16.06.1997** – M.Sc. in biology with specialization in microbiology obtained at the Faculty of Biological Sciences of the University of Wrocław, on the basis of master’s thesis entitled *“Characteristics of selected enzymatic activities of staphylococci isolated from clinical specimens”*, promoter Dr hab. Jan Kołodyński

**3. INFORMATION ABOUT PREVIOUS EMPLOYMENT IN SCIENTIFIC/ARTISTIC INSTITUTIONS**

The Silesian Piasts Medical University in Wrocław, Faculty of Medicine

- **from 2006 until the present time** – research and teaching employee, assistant professor at the Department of Biology and Medical Parasitology
- **1998-2006** – assistant at the Department of Biology and Medical Parasitology
- **1997-1998** – engineering and technical employee at the Department of Biology and Medical Parasitology

#### **Scientific scholarship**

**2011** – post-doctoral scholarship (10 months; 01.03.2011 - 31.12.2011) within the project "Programme for the development of Wrocław Medical University," implemented by the European Social Fund, (agreement No. 5-S/PD-SN/2011)

**4. INDICATION OF SCIENTIFIC ACHIEVEMENT RESULTING FROM ART. 16 PAR. 2 OF THE ACT OF 14 MARCH 2003 ON ACADEMIC DEGREES AND TITLES AS WELL AS DEGREES AND TITLES WITHIN THE SCOPE OF ART (JOURNAL OF LAWS OF 2003, NO. 65, ITEM 595, AS AMENDED)**

*4.1. TITLE OF SCIENTIFIC/ARTISTIC ACHIEVEMENT*

The academic achievement consists of a single-subject series of five publications under the title:

***„Effect of selected plant preparations possessing antimicrobial activities on uropathogenic *Escherichia coli* strains isolated from patients with urinary tract infections”***

*4.2. . LIST OF PUBLICATIONS REPRESENTING SCIENTIFIC ACHIEVEMENTS LISTED IN ART. 16 PAR. 2 OF THE ACT (AUTHOR/AUTHORS, TITLE/TITLES OF PUBLICATIONS, YEAR OF PUBLICATION, PUBLISHER)*

**1. Dorota Wojnicz, Alicja Z. Kucharska, Anna Sokół-Łętowska, Marta Kicia, Dorota Tichaczek-Goska:** Medicinal plants extracts affect virulence factors expression and biofilm formation by the uropathogenic *Escherichia coli*. **Urological Research** 2012 Vol.40 no.6; s.683-697.

**IF: 1.591, Pkt. MNiSW/KBN: 20.00**

My contribution to this work included authorship of the work concept; preparing plant extracts and determination of their influence on virulence factors and biofilm formation by *E. coli* rods; performing PCR and electrophoresis; making of photographic documentation; analysis and elaboration of the obtained results; preparation of the manuscript and fulfilling the function of the corresponding author.

*I estimate my contribution at 85%.*

**2. Dorota Wojnicz, Zuzanna Sycz, Stefan Walkowski, Janina Gabrielska, Aleksandra Włoch, Alicja Kucharska, Anna Sokół-Łętowska, Andrzej B. Hendrich:** Study on the influence of cranberry extract Żuravit S·O·S® on the properties of uropathogenic *Escherichia coli* strains, their ability to form biofilm and its antioxidant properties. **Phytomedicine** 2012 Vol.19 no.6; s.506-514.

**IF: 2.972, Pkt. MNiSW/KBN: 35.00**

My contribution to this work included authorship of the work concept; performing investigations assessing the effect of cranberry extract on virulence

factors and biofilm production by uropathogenic *E. coli* strains; making of photographic documentation; analysis and elaboration of the obtained results; preparation of the manuscript.

*I estimate my contribution at 70%.*

- 3. Dorota Wojnicz, Dorota Tichaczek-Goska, Marta Kicia.:** Effect of asiatic and ursolic acids on growth and virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli* strains. **Turkish Journal of Biology** 2013 Vol.37 no.5; s.556-564.

**IF: 1.216, Pkt. MNiSW/KBN: 20.00**

My contribution to this work included authorship of the work concept; performing investigations assessing the effect of asiatic and ursolic acids on survival and virulence factors of *E. coli* strains; performing PCR and electrophoresis; analysis and elaboration of the obtained results; preparation of the manuscript and fulfilling the function of the corresponding author.

*I estimate my contribution at 85%.*

- 4. Dorota Wojnicz, Marta Kicia, Dorota Tichaczek-Goska:** Effect of asiatic and ursolic acids on morphology, hydrophobicity, and adhesion of UPECs to uroepithelial cells. **Folia Microbiologica** 2013 Vol.58 no.3; s.245-252.

**IF: 1.145, Pkt. MNiSW/KBN: 15.00**

My contribution to this work included authorship of the work concept; performing investigations assessing the effect of asiatic and ursolic acids on morphological and physicochemical changes of bacterial cells, on adhesion of *E. coli* rods to epithelial cells; analysis and elaboration of the obtained results; making of photographic documentation; preparation of the manuscript and fulfilling the function of the corresponding author.

*I estimate my contribution at 85%.*

- 5. Dorota Wojnicz, Dorota Tichaczek-Goska, Marta Kicia.:** Pentacyclic triterpenes combined with ciprofloxacin help to eradicate the biofilm formed *in vitro* by *Escherichia coli*. **Indian Journal of Medical Research** 2015 Vol.141 no.3; s.343-353

**IF<sub>2013</sub> = 1.661, Pkt. MNiSW/KBN: 20.00**

My contribution to this work included authorship of the work concept; performing PCR and electrophoresis; performing investigations assessing the effect of triterpenes in combination with ciprofloxacin on eradication of bacterial biofilm. analysis and elaboration of the obtained results; making of photographic documentation; preparation of the manuscript and fulfilling the function of the corresponding author.

*I estimate my contribution at 85%.*

All publications have been published in journals of the JCR list. The total impact factor of publications included in the research achievements according to the date of publication is **8.585**. The total sum of points received for publications included in the scientific achievements in accordance with the list of the Ministry of Science and Higher Education (MNiSW/KBN) according to the date of publication is **110** points. Coauthors' statements are contained in the Appendix 6.

#### *4.3. DESCRIPTION OF THE SCIENTIFIC AIM OF THE STUDY AND RESULTS OBTAINED WITH DESCRIPTION OF THEIR POTENTIAL APPLICATION*

##### **Aim of the studies**

Despite the fact that medicine has made notable progress in the area of assessing and treating infectious diseases, urinary tract infections (UTIs) continue to pose serious clinical, therapeutic and economic problems. The etiology of these infections is predominantly by gram-negative bacteria, mainly uropathogenic *Escherichia coli* strains. The ability of these bacteria to form a biofilm is a frequent cause of ineffective treatment of chronic and recurring urinary tract infections. Many virulence factors (such as cell surface hydrophobicity, presence of adhesins, motility) promote the formation of a biofilm mass in which the extracellular matrix protects cells against the host's immune response and impedes the penetration of antibiotics or chemotherapeutic agents. The drug concentration required to kill all bacterial cells in the biofilm population will be many times higher than the bactericidal concentration of the same therapeutic agent when used on planktonic forms. Due to toxicity, such high concentrations cannot be used in human pharmacotherapy.

With growing social awareness of the adverse effects of antibiotic overuse, an increased attention is currently paid to natural products. Today, herbal medicine follows two parallel lines of development. One involves plant infusions or extracts which contain complexes of many active agents. A wide variety of such plant and herbal preparations are used to heal different conditions of the digestive tract, the urinary system, the cardiovascular system, and skin lesions. The other trend in herbal medicine consists in applying a single active compound that is isolated from plants, identified and purified. Such isolates have specific pharmacological properties and precisely defined mechanisms of activity. They are usually characterised by low toxicity and few side-effects. It is important to note that one of the key aspects of herbal remedies is their economic advantage. Bearing in mind the scale of certain chronic diseases, plant medicines become the economic choice preferred to more expensive synthetic pharmaceuticals.

Pharmacies and herb stores currently offer a wide selection of plant preparations. Therefore I consider it a positive step in my research to determine the impact of plant material on the virulence features of *Escherichia coli* rods responsible for UTIs. My interest in this study is *inter alia* focused on the phenotypic features of these microbes which promote the adherence of bacteria to host tissues and the formation of a biofilm. The herbal extracts used in my research are those recommended by doctors and pharmacists to both prevent UTIs and to support their treatment (Publication No.1). With many renowned international science and research centres showing strong interest in the properties of cranberries, I decided that my research should include Żuravit S·O·S®, a preparation with cranberry fruit extract available in our pharmacies (Publication No.2).

It is acknowledged that the medicinal properties of natural products are due to the presence of biologically active agents such as flavonoids. Despite the fact that reports and accounts of the effects produced by many plant-derived compounds can be found in the professional literature, there is a continuous search for new ones to be identified and offered as alternatives to antibiotic therapies. Pentacyclic triterpenes are examples of such compounds and their anti-inflammatory, immunostimulant, cytotoxic, anti-cancer, hepatoprotective, antidiabetic, antiviral and protozoacidal activities are extensively explored and described, but only few reports study their anti-bacterial effects. Therefore I considered it useful to use these

compounds (asiatic acid and ursolic acid) in my own research and to assess their antibacterial activities (Publications No.3, 4, and 5).

### **Presentation of the research results**

#### **PUBLICATION NO. 1**

**Wojnicz D., Kucharska A.Z., Sokół-Łętowska A., Kicia M., Tichaczek-Goska D.: Medicinal plants extracts affect virulence factors expression and biofilm formation by the uropathogenic *Escherichia coli*. Urological Research 2012 Vol.40 no.6; s.683-697.**

The purpose of this study was to evaluate the activity of silver birch leaves (*Betula pendula*), common nettle leaves (*Urtica dioica*), lingonberry leaves (*Vaccinium vitis-idaea*), common horsetail herb (*Equisetum arvense*), smooth rupturewort herb (*Herniaria glabra*), and sweet woodruff herb (*Galium odoratum*) extracts on bacterial survivability, virulence factors, and biofilm formation by uropathogenic *Escherichia coli* strain. The selection of plant material was based on the information about their use in prevention and treatment of urinary tract infections. Birch leaves stimulate urination, at the same time removing any surplus of sodium ions, chloride ions and uric acid. Leaf extracts of common nettle are used as a diuretic agent in mild urinary tract infections and inflammations, oliguria, as a supportive agent in urolithiasis and in gouty diathesis. Lingonberry leaves slightly increase the flow of urine and discharge of sodium and chloride ions; they also act as a bactericide in the urinary tract. Common horsetail increases the flow of urine and chloride ions. Extracts of smooth rupturewort may increase diuresis in some individuals, depending on the kidney activity status, and generally ease natriuresis, chloruria and the discharge of urea. They may also dissolve deposits of urinary gravel, and urate calculus. Extracts of sweet woodruff increase the flow of urine due to their spasmolytic effect on the urinary tract and inhibit reabsorption in renal tubules.

The clinical *Escherichia coli* strain used in this study was obtained from a pyelonephritis patient. Based on the presence of the *chuA* and *yjaA* genes and the DNA fragment Tsp.E4.C2 the strain was confirmed to belong to the phylogenetic group B2 of uropathogenic strains. The genetic and phenotypic characteristics of the

strain were established. A genetic screen showed the presence of genes coding for adhesins (*papC*, *sfa*, *csgA*), a siderophore (*aer*), toxins (*hlyA*, *cnf1*), and biofilm-related genes (*luxS*, *mcbA*, *mqsR*, *sdiA*, and *ant43*). It was further demonstrated that the strain has a number of pathogenicity determinants such as hydrophobicity of the cell surface, motility, expression of P fimbriae and curli fibers, hemagglutination of erythrocytes, and formation of biofilm.

Extracts from plant material were prepared. A comprehensive qualitative and quantitative analysis was carried out by liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) to determine the levels of bioactive compounds. 3,4-dihydroxypropiophenone-3- $\beta$ -D-glucoside (DHPPG) belonging to the group of propiophenone derivatives, and flavonol derivatives such as quercetin (quercetin-3-galactoside, quercetin-3-glucuronide) were the dominant constituents of the silver birch extract. Flavonols (derivatives of quercetin and kaempferol) and phenolic acids (mainly caftaric acids and its derivatives) were the largest group of compounds in the common horsetail extract. The smooth rupturewort extract was rich in flavonols (quercetin, kaempferol, isorhamnetin), caffeoylquinic acid, feruloylquinic acid and iridoids belonging to monoterpenes. Phenolic acids (protocatechuic acid, caffeoylquinic acid), flavonols (quercetin and kaempferol) as well as iridoids were identified as the main components of the sweet woodruff extract. The extract from common nettles was comprised predominantly of phenolic acids, i.e. protocatechuic acid, ferulic acid, coumaric acid and dicaffeoylquinic acid. Flavonols, phenolic acids, procyanidins and iridoids were the dominant compounds in the lingonberry extract.

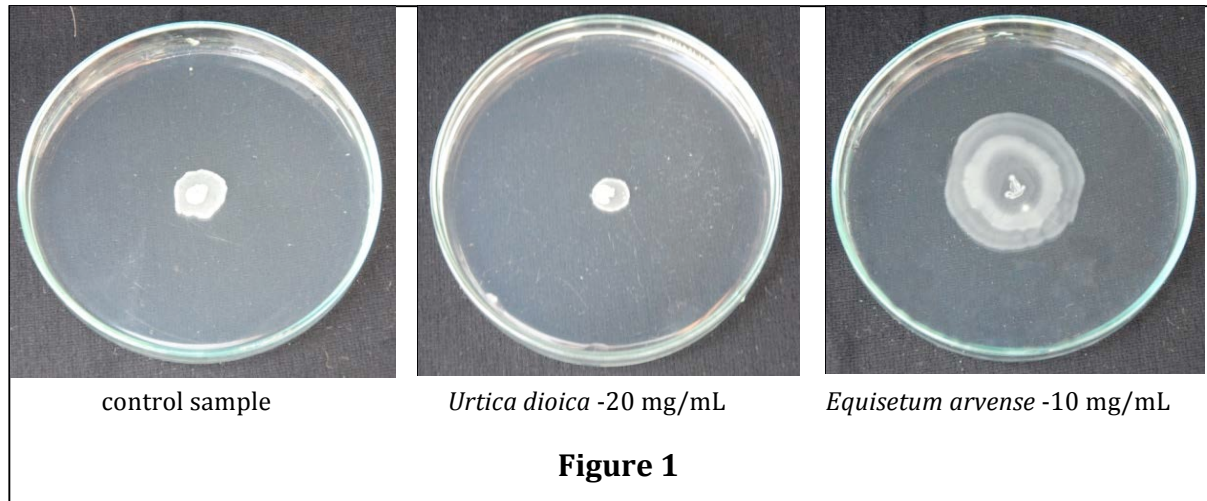
The antibacterial activities of the tested plant extracts varied, with the most effective bactericidal effect demonstrated by the extracts of *Herniaria glabra* and *Vaccinium vitis-idaea*. The lowest bactericidal activity was shown by the extracts of *Urtica dioica* and *Equisetum arvense*.

The cell surface hydrophobicity in the auto-aggregative *Escherichia coli* strain was changed following its exposure to all the tested extracts except for *Vaccinium vitis-idaea*. The extracts from *Urtica dioica* and *Galium odoratum* demonstrated the highest level of effectiveness as they changed the cell surface properties of the bacteria to hydrophilic.

In the case incubated bacteria, the motility of *Escherichia coli* rods in agar was significantly reduced in the presence of the extracts from *Betula pendula* and *Urtica*



*dioica* (Fig. 1). The extracts from *Herniaria glabra* and *Vaccinium vitis-idaea* were hardly effective in impairing the ability of bacteria to move. Bacteria exposed to the extracts from *Equisetum arvense* and *Galium odoratum* showed an increased motility compared with the control sample (Fig. 1).



P-fimbriae are adhesins responsible for the adherence of *Escherichia coli* rods to the uroepithelium. Incubated bacteria lost their ability to hemagglutinate erythrocytes in the presence of extracts from *Vaccinium vitis-idaea*, *Galium odoratum*, *Betula pendula* and *Urtica dioica*, which appeared to be indicative of the loss of P-fimbriae from the bacterial cell surface. No such effect was observed in rods incubated with extracts from *Equisetum arvense* and *Herniaria glabra*.

Bacterially-produced curli fimbriae have an important role in the process of biofilm formation. Their loss from the cell surface of the tested strain was noted following incubation of rods with the extracts from *Vaccinium vitis-idaea* and *Equisetum arvense*. Bacteria formed white (not pink) colonies on YESCA agar containing Congo red, which indicated that Congo-red binding fimbriae had been lost. The other extracts had no effect on the loss of curli fimbriae.

Having demonstrated that bacterial virulence factors were subject to a change that would promote the formation of biofilm mass, I used those findings to support the launch of the final stage of my research. This was aimed at determining how plant extracts may influence the process of biofilm formation. The quantities of biofilm were measured by spectrophotometric method. Readings were taken at 24-hour intervals and the whole experiment was completed within 10 days. It was after days

4, 5 and 6 of incubation period that the extracts were observed to be at the highest level of their anti-biofilm efficiency. The biofilm mass was reduced ca. 98% compared with the control sample. A strong anti-biofilm effect was further observed after days 9 and 10 of incubation with extracts of *Equisetum arvense*, *Herniaria glabra* and *Vaccinium vitis-idaea*. A detailed analysis of the results showed that the extracts from *Equisetum arvense* and *Herniaria glabra* produced the strongest inhibiting effect on the formation of biofilm mass. These results are likely to be related to the presence of flavonoids, which may block autoinducers used as a means of communication by bacteria growing in biofilms.

In conclusion, the above study yielded new information with regard to the effects of water extracts from plant leaves or herbs recommended in urinary tract infections. The results help to understand the mechanism of their action on uropathogenic *Escherichia coli* rods which are the main cause of these infections. It was shown that the anti-bacterial activity of extracts of silver birch leaves, common nettle leaves, lingonberry leaves, common horsetail, smooth rupturewort and sweet woodruff consisted not only of inhibiting bacterial growth or reducing bacterial survivability but also of inhibiting virulence factors. With a reduced expression of such factors microbes become less pathogenic, which may in consequence prevent infection from developing in the urinary tract.

## **PUBLICATION NO. 2**

**Dorota Wojnicz, Zuzanna Sycz, Stefan Walkowski, Janina Gabrielska, Aleksandra Włoch, Alicja Kucharska, Anna Sokół-Łętowska, Andrzej B. Hendrich: Study on the influence of cranberry extract Żuravit S·O·S® on the properties of uropathogenic *Escherichia coli* strains, their ability to form biofilm and its antioxidant properties. *Phytomedicine* 2012 Vol.19 no.6; s.506-514.**

Żuravit S·O·S® is a commercially marketed diet supplement. It contains a highly concentrated extract of large cranberries also known as American cranberries or bearberries (*Vaccinium macrocarpon*). It is recommended in urinary tract inflammation-related conditions.

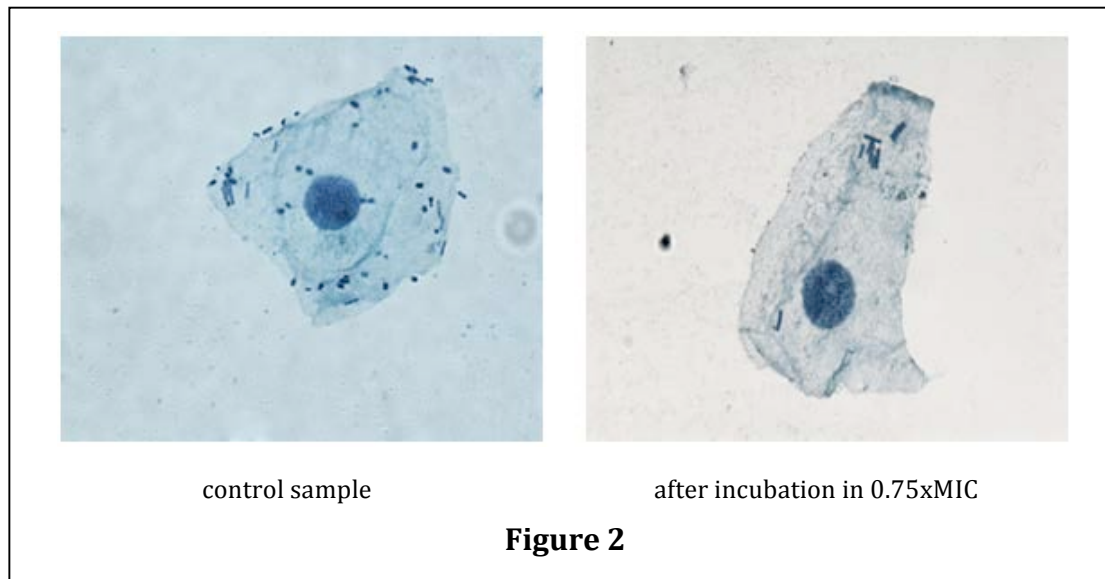
The majority of research available to-date appears to focus on the single topic of anti-adhesive properties of cranberries, which is the reason why the objective of this study was to explore a different field in a search for more information on the antioxidant and antibacterial properties of this plant.

The cranberry extract in Żuravit S·O·S® showed a high antioxidant activity. It was also confirmed to contain a large quantity of phenolic compounds (TPC=90.42±1.8 mg GA/g) and anthocyanins (TAC=28.95±0.3 mg C3G/g) including peonidine-3-galactoside, peonidine-3-arabinoside, cyanidin-3-galactoside, cyanidin-3-arabinoside, cyanidin-3-glucoside, peonidin-3-glycoside, and malvidin-3-arabinoside. The cranberry preparation tested contained 21% proanthocyanidin monomers, 49% - proanthocyanidin dimers, and 30% proanthocyanidin trimers.

Clinical *Escherichia coli* strains isolated from UTI patients' urine were used in the research. The testing began by determining MIC (minimum inhibitory concentration) values for the extract against bacteria.

*Escherichia coli* rods were incubated with 0.25xMIC, 0.5xMIC and 0.75xMIC concentrations of cranberry extract. Their effect on virulence features, which promote bacterial survival and spread in the urinary tract, was subsequently evaluated. In one of the strains the cell surface characteristics transitioned from strongly hydrophobic to hydrophilic but this only occurred following incubation in the extract at concentration of 0.75xMIC. The cranberry extract at each of the above concentrations caused the loss of bacterial motility. None of the extract concentrations inhibited the synthesis of curli fimbriae.

The results of my research confirmed the information available in the literature with regard to the inhibitory effect of cranberry preparations on the process of bacterial adherence to epithelial cells. The count of bacterial cells attached to the epithelium declined on a pro rata basis as the concentration of cranberry extract used in experiments was increased. The 0.75xMIC cranberry concentration showed the greatest anti-adhesive effectiveness, when the number of bacteria adhering to epithelial cells went down by ca. 80% (Fig.2).



It should be emphasised that certain morphological changes were also observed, specifically in those rods which were incubated in 0.5xMIC and 0.75xMIC concentrations of the cranberry extract. Short (5-15  $\mu\text{m}$ ) and long (>15  $\mu\text{m}$ ) filaments dominated in the bacterial suspensions.

Recurrent urinary tract infections may be caused by bacterial ability to form a biofilm. Antibiotics do not penetrate effectively into this structure, and a fraction of bacteria left in the urinary tract is probably able to reconstruct the biofilm. In view of this fact I examined the effect of Żuravit S·O·S® on the ability to form biofilm by *Escherichia coli* strains. Quantitative measurements of biofilm mass were carried out by spectrophotometric method after 24, 48 and 72 hours of incubation. All the extract concentrations were found to have reduced the quantity of biofilm formed by tested rods.

The cranberry preparations (e.g. Żuravit S·O·S®) recommended for prevention of urinary tract infections by such organisations as the European Association of Urology showed antibacterial activity.

In summary, the results of the study significantly enhance the current knowledge on the effect of cranberry extract on uropathogenic *Escherichia coli* rods. The literature only provides a comprehensive description of adhesive effects relating to P fimbriae – adhesins characteristic of bacterial strains that cause pyelonephritis. The above study also showed that a cranberry extract may alter the characteristics of a bacterial cell surface from hydrophobic to hydrophilic, which adversely affects the number of bacteria adhering to uroepithelial cells. It is reasonable to suggest that due

to the cranberry extract's effect that reduces the ability of *Escherichia coli* rods to move and biofilm formation could find use in prophylaxis, supportive therapy, and prevention of relapses of urinary tract infections.

I am inclined to conclude that urinary tract infection-susceptible individuals who suffer from this ailment frequently should use Żuravit S·O·S® to both prevent the illness and to support its antibiotic therapy.

### **PUBLICATION NO. 3**

**Dorota Wojnicz, Dorota Tichaczek-Goska, Marta Kicia.: Effect of asiatic and ursolic acids on growth and virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli* strains. Turkish Journal of Biology 2013 Vol.37 no.5; s.556-564.**

Urinary tract infections are a frequent problem in patients with indwelling catheters. They account for ca. 30-40% of the total in-patient infections. The urological catheter easily provokes bacterial adhesion and biofilm formation. Individual planktonic forms detached from the biofilm may colonise different sections of the urinary tract, aggregate, and subsequently transform into a mature biofilm structure. A large proportion of UTI patients hardly, if ever, respond to pharmacological therapy even though new generation drugs are administered following a careful selection to satisfy individual antibiograms. Such medication primarily acts on planktonic bacteria, and the reason for its generally limited effect is the failure to actively deal with the complex structure of the biofilm where the metabolism of bacteria is altered.

It is an acknowledged fact that the transition of cells from planktonic growth to biofilm is related to changes in the expression of many genes which encode virulence features, drug transporters, and regulatory proteins. In view of the continued failure in the treatment of chronic and recurring urinary tract infections there seems to be little room for premature optimism with regard to antibiotic therapy, in particular when infections which involve bacterial biofilm are to be eliminated. Recent years have seen growing interest in plant compounds perceived as auxiliary remedies capable of mitigating the risk of infections in the human body or complementing antibiotic therapies. Pentacyclic triterpenes are an example of such compounds. With the exception of antibacterial activity, their bioactivity has been thoroughly explored

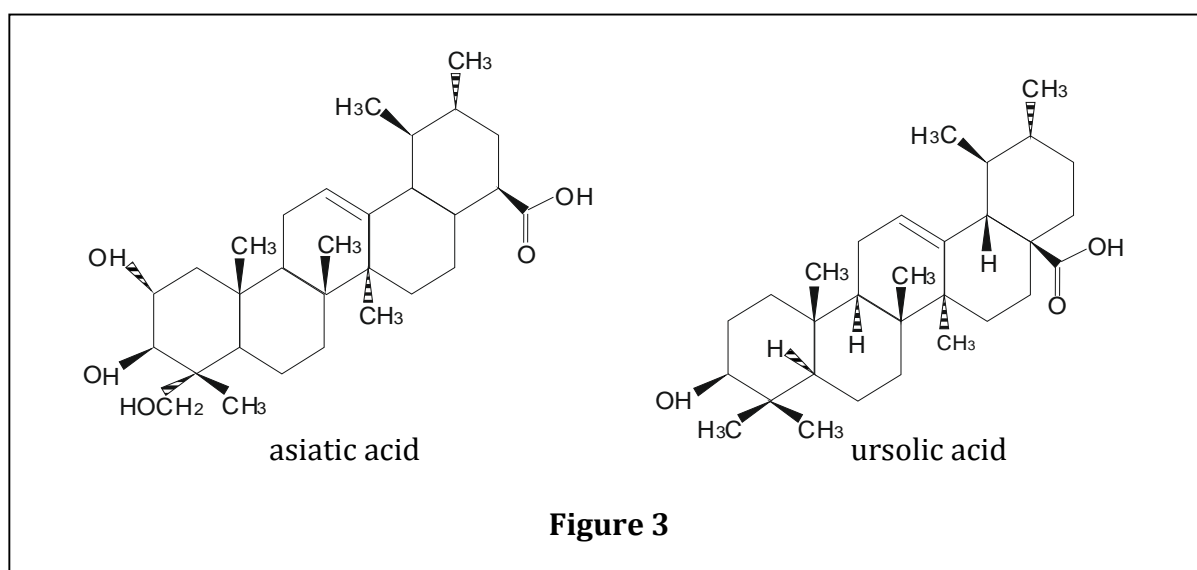
and described. Triterpene-rich plants have become frequent and popular dietary supplements such as juices, tisanes or capsules – to prevent or treat many conditions, mainly of inflammatory origin. They energize the human body and are also used as supporting and protecting measures in chemotherapy.

The antibacterial activity of triterpenes has seen only few reports to-date, which prompted me to focus my research on this question.

The main aim of my study was to determine the effect of certain selected pentacyclic triterpenes – asiatic acid and ursolic acid – on virulence features of *Escherichia coli* rods which are responsible for the formation and growth of biofilms. Twenty clinical *Escherichia coli* strains were used in the study which were isolated from pyelonephritis patients' urine. Genetic testing verified that the strains belonged to the uropathogenic B2 group. The strains were tested for genes encoding adhesins (*papC*, *afa*, *draE*, *csgA*) and a toxin (*hlyA*) and on that basis subsequently divided into 4 pathotypes: (1) *papC+*, *csgA+*, *hlyA+*, *afa-*, *draE-*; (2) *papC+*, *csgA+*, *hlyA-*, *afa-*, *draE-*; (3) *papC-*, *csgA+*, *hlyA+*, *afa-*, *draE-*; (4) *papC-*, *csgA+*, *hlyA-*, *afa-*, *draE-*. More than one half (55%) of the strains tested fell into pathotype 1.

Minimum concentrations were determined for the bacterial growth-inhibiting activity of asiatic and ursolic acids. The results ranged from 512 µg/mL to 1024 µg/mL. The bioavailability of these acids is rather poor in eukaryotic cells and 10, 20, 30, 40 and 50 µg/mL concentrations were used for testing.

The tests resulted in determining the effect of the acids on the survival of *Escherichia coli* planktonic forms. Measurements were carried out after 2, 4, 6 and 24 hours. After the first 2 hours of incubation the percentage of live cells had increased significantly in each concentration of ursolic acid and the highest concentration of asiatic acid compared with the control sample. After 4 hours of incubation the survival rate came down. A statistically significant decrease in the number of live bacteria occurred only among the rods incubated with asiatic acid. After 6 hours of incubating the number of surviving microorganisms was slightly higher but at the end of the 24 hour period it went down again. On reviewing the percentage of the bacteria treated with triterpenes it appears that asiatic acid shows a higher bactericidal effectiveness than ursolic acid. This difference may lie in the fact that the two triterpenes vary in their chemical structures, i.e. they have different numbers of methyl groups and hydroxyl groups (Fig. 3).

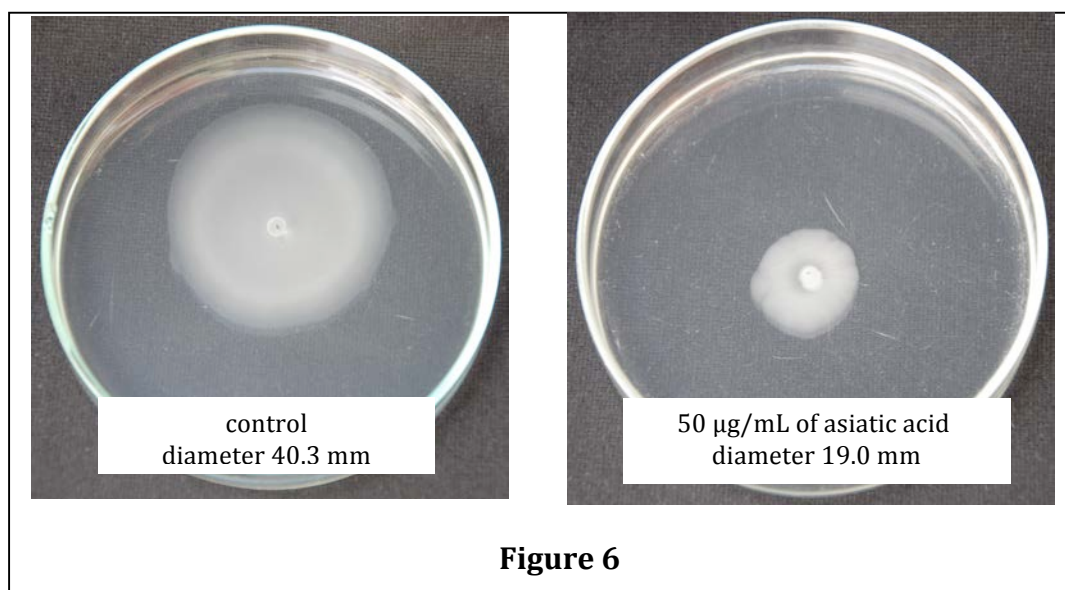
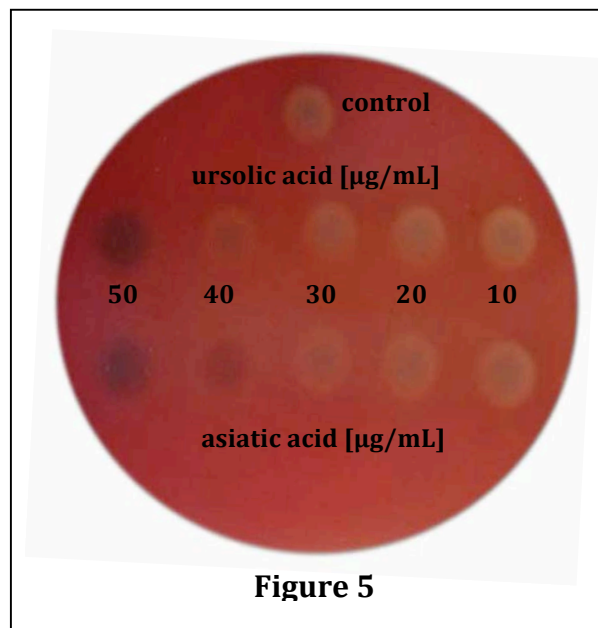
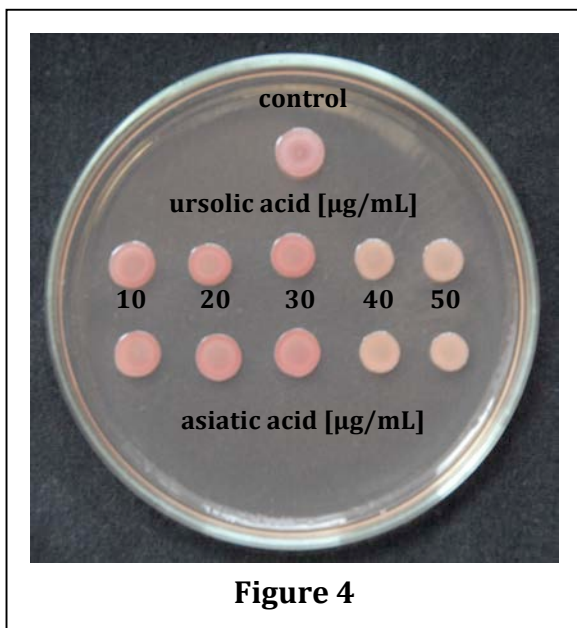


The next stage of the research revealed that 17 out of 20 tested strains had the *papC* gene but only 15 strains caused the agglutination of erythrocytes, which is indicative of the presence of P fimbriae presence on the cell surface. Only 6 out of 15 strains lost their ability to hemagglutinate following incubation with asiatic acid and five following exposure to ursolic acid. It should be emphasised that the use of the lowest concentration (10 µg/mL) of either triterpene tested caused the loss of this virulence feature.

The presence of the *csgA* gene was reported in each tested strain. Synthesis of curli fimbriae was observed in 4 strains subjected to the action of asiatic acid and 3 strains incubated with ursolic acid. The above changes occurred only when the two highest triterpene concentrations were used 40 and 50 µg/mL (Fig. 4).

Twelve among the 20 tested strains had the *hlyA* gene, of which 11 produced alpha-haemolysin. Anti-haemolytic activity of asiatic acid and ursolic acid (50 µg/mL in each case) was confirmed for 8 strains (Fig. 5).

Among the tested rods, 14 strains demonstrated motility. All concentrations of asiatic and ursolic acids affected the motility but statistically significant results were only obtained at concentrations of 40 and 50 µg/mL (Fig. 6).



In conclusion, the test results explicitly demonstrate that both asiatic acid and ursolic acid exert antibacterial effects on planktonic forms of uropathogenic *Escherichia coli* strains. The results of the study are a substantial contribution to the knowledge on the activities of these two triterpene compounds. Having regard to the fact that only a few reports describe their antibacterial activity, I consider the results are particularly valuable.



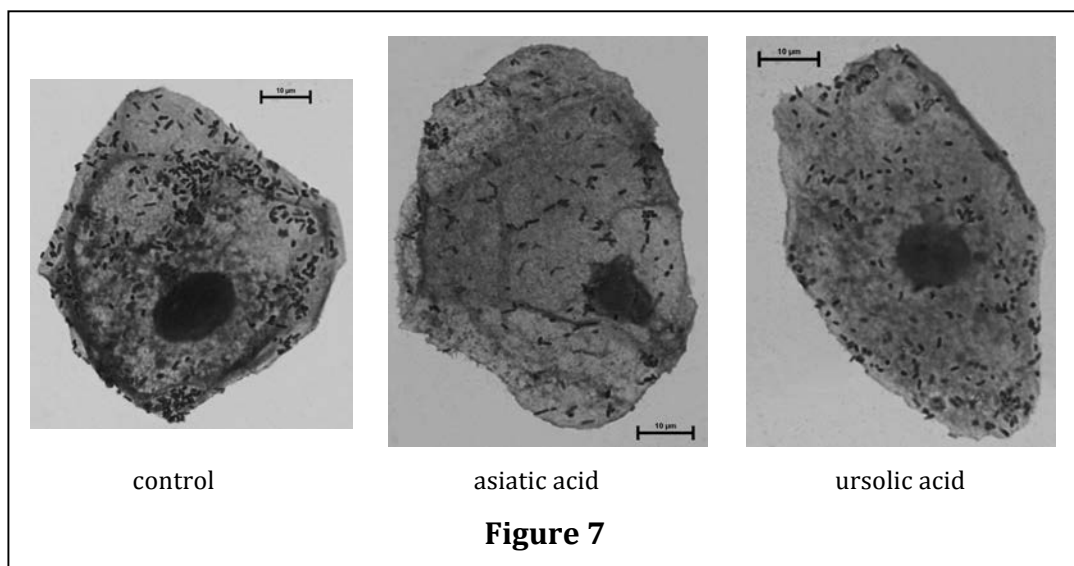
**PUBLICATION NO. 4**

**Dorota Wojnicz, Marta Kicia, Dorota Tichaczek-Goska: Effect of asiatic and ursolic acids on morphology, hydrophobicity, and adhesion of UPECs to uroepithelial cells. Folia Microbiologica 2013 Vol.58 no.3; s.245-252.**

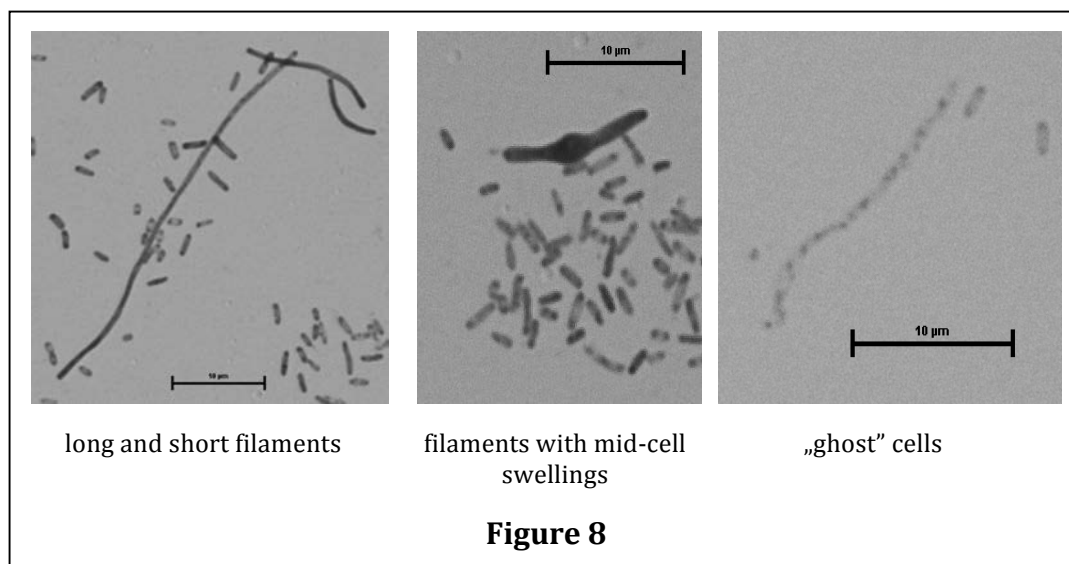
Clinical *Escherichia coli* strains obtained from pyelonephritis patients. The uropathogenic nature of these strains was confirmed by molecular testing. Asiatic acid and ursolic acids were used also for the purpose of those experiments as I thought it useful to determine the effect that these two compounds may exert on virulence features other than those discussed in the previous publication (Publication No. 3).

Fifteen out of 20 strains showed a hydrophobic cell surface. The cell surfaces of the other strains were of hydrophilic nature. The primary aim of my research was to determine the effects of asiatic acid and ursolic acid (concentrations used: 10, 20, 30, 40 and 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) on the hydrophobic nature of bacteria cell surfaces and on the abilities of the rods to adhere to the epithelium of the urinary tract. Changes in cell surface occurred in 3 strains exposed to ursolic acid and 2 strains treated with asiatic acid (each at its highest concentration).

In further studies I was able to determine the effect of triterpenes on the adhesion of bacteria to epithelial cells when bacteria had a hydrophobic cell surface and were capable of synthesising P fimbriae and curli fimbriae. Indeed, the highest concentrations (40 and 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) significantly reduced the count of rods adhering to the epithelium (Fig. 7).



Furthermore, the study determined the effect of the acids on changes in bacterial morphology. Long and short filaments, ghost cells, and short filaments with mid-cell swellings were observed in the cultures exposed to triterpenes (Fig. 8). A larger number of cells with morphological alterations were observed in bacteria incubated with ursolic acid.



In conclusion, the foregoing study allowed to explore the problem of the anti-adherence effect of asiatic acid and ursolic acid on *Escherichia coli* rods and to expand the knowledge of this subject. Assessing the effect of these compounds on the features that enable bacteria to attach themselves to epithelial cells (hydrophobicity, presence of P fimbriae and curli fimbriae) may provide an explanation of the mechanism by which they impair the bacterial ability of adhesion. It should also be emphasised that the morphological changes in *Escherichia coli* cells exposed to triterpenes may provide an additional element obstructing adherence of bacteria to uroepithelial cells.

#### PUBLICATION NO. 5

**Dorota Wojnicz, Dorota Tichaczek-Goska, Marta Kicia.: Pentacyclic triterpenes combined with ciprofloxacin help to eradicate the biofilm formed *in vitro* by *Escherichia coli*. Indian Journal of Medical Research 2015 Vol.141 no.3; s.343-353.**

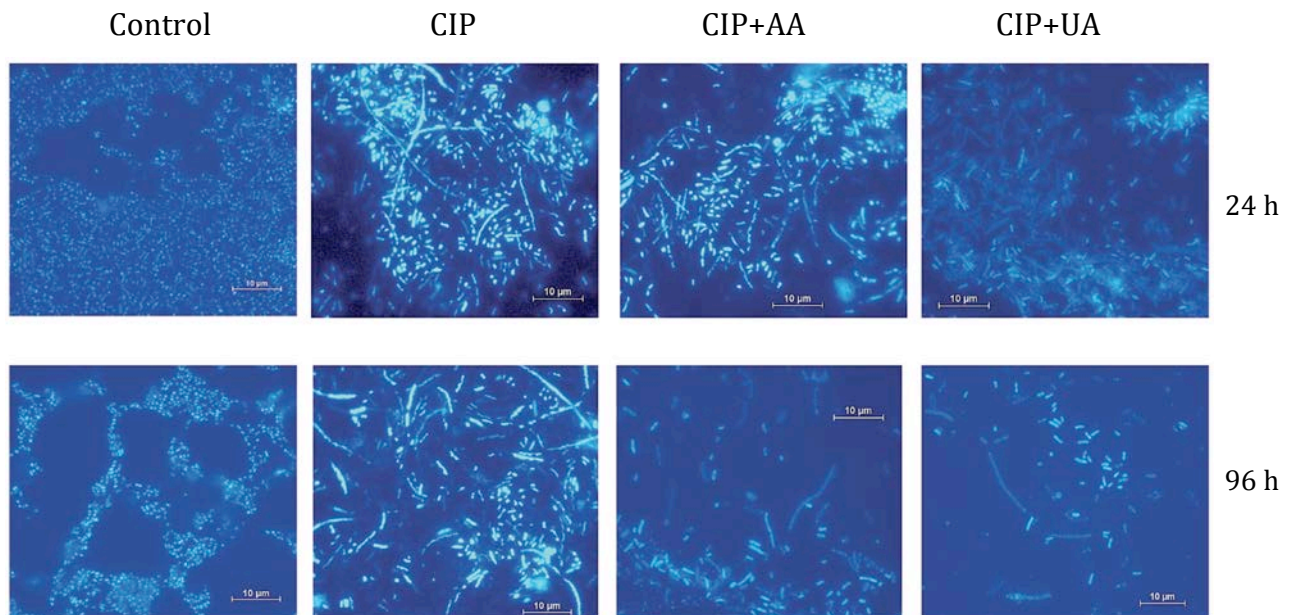
Ciprofloxacin is an antibiotic used in urinary tract infections. It proves an effective therapeutic measure against planktonic bacteria when administered in

adequate doses. Ciprofloxacin will however cease to serve its bactericidal purpose if a biofilm is formed by microbes, because in biofilm cultures the drug concentration required to inhibit bacterial growth is 1000-times greater than that which kills planktonic forms. This prompted me to carry out research with the aim of determining the effect of ciprofloxacin (CIP), asiatic acid (AA), and ursolic acid (UA) and their combinations (CIP+AA, CIP+UA) on the formation of biofilms on microtiter plates and urinary catheters and on their eradication.

Uropathogenic *Escherichia coli* clinical strains and the uropathogenic reference *Escherichia coli* CFT037 strain were used. The presence of the *chuA* and *yjaA* genes and the DNA fragment TspE4.C2 confirmed that the strains belonged to the uropathogenic group. At the same time the bacteria were screened for the presence of genes whose products are essential for biofilm formation (*luxS*, *sdiA*, *mqsR*, *ant43*, *yliH*, *cspG*, *yceP*, *bolA*, *rpoS*). These genes were detected in all the rods.

In the first stage of experiments the effect of CIP (0.5xMIC), AA (50µg/mL), UA (50µg/mL) and their combinations on the process of biofilm formation was determined by spectrophotometric method. The serial dilution method was employed to determine the count of live bacterial cells in the biofilm. The quantity of biofilm was estimated on the basis of the OD values that were read after 6, 12, 18, 24, 48, 72 and 96 hours of incubating the bacteria with ciprofloxacin, triterpenes or their mixtures. In the case of the clinical strains, the anti-biofilm effect of the CIP+AA and CIP+UA mixtures was observed after a 12 hours incubation period. The CIP+UA mixture was found to continue inhibiting the biofilm formation after 48, 72 and 96 hours. At the same time, the count of live cells in the biofilm mass was determined. The lowest CFU/mL value was noted after 72 and 96 hours of incubating the bacteria in CIP+AA and CIP+UA. The reference *Escherichia coli* CFT037 strain showed a higher sensitivity to the activity of mixtures containing CIP and triterpene compounds. An anti-biofilm activity was demonstrated after 6, 18, 72 and 96 hours of incubating the *Escherichia coli* CFT037 strain with both CIP+AA and CIP+UA. The lowest count of live cells was confirmed in 24- and 96-hour biofilm cultures.

The progress of CIP, CIP+AA and CIP+UA-stimulated changes was observed under a fluorescence microscope by DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) staining. Following a 24 hour period of growth, the bacteria formed large aggregates typical of a mature biofilm (Fig. 9). This aggregate formation was inhibited by CIP+AA and CIP+UA. After 96 hours the aggregates were considerably diminished in size.



**Figure 9**

The next stage of the study involved the assessment of the rate of biofilm production on silicone-coated urological catheters with the use of 1% TTC (2, 3, 5-triphenyltetrazolium chloride). The bacteria in a biofilm reduced TTC to red formazan. A darker coloration of the catheter surface reflected a higher count of live bacteria. As regards the clinical strains, the catheters were covered with the faintest colour shades after 48 hours of incubation in all the assays and the count of live cells decreased to 29% in comparison with the control sample. The cell count increased after 72 hours except for the assay with CIP+UA. As regards the reference strain, an anti-biofilm activity was seen after 18, 48, 72 and 96 hours in those mixtures which contained CIP+AA and CIP+UA.

In the final stage of the study the effect of CIP and the acids on the eradication of a 24-hour biofilm from the surfaces of urological catheters was determined. The mixture of CIP+AA reduced the count of bacteria in the biofilm mass to 12% and 5%

in the clinical strains and in the reference *Escherichia coli* CFT037 strain, respectively. The mixture of CIP+UA reduced the bacterial count to 29% (clinical strains) and 18% (reference strain). The CIP+AA mixture acted on a mature film more efficiently than the CIP+UA mixture.

These results may appear to reflect the chemical character of the molecules of asiatic acid and ursolic acid. Asiatic acid has a greater number of hydroxyl groups, which makes it a more of a hydrophilic compound whilst ursolic acid has a greater number of methyl groups, which is indicative of the hydrophobic nature of its molecule. The hydrophilic character of asiatic acid may enable its more efficient penetration into the biofilm and thereby improve the bactericidal effect of ciprofloxacin.

In conclusion, both asiatic acid and ursolic acid show synergistic activities with ciprofloxacin and by acting together they inhibit the formation and aid the eradication of bacterial biofilm on and from a catheters' surface. Plant-derived substances may thus become an important element of prevention and therapy of catheter-induced urinary tract infections.

### **The most important results associated with the research described above and contained in the single-subject cycle of 5 original experimental papers**

The most important research achievements in the area of plant preparations and their effect on uropathogenic *Escherichia coli* strains:

- ✚ demonstrated that plant preparations recommended for prevention of urinary tract infections change the virulence features of uropathogenic strains, reducing microbial pathogenicity
- ✚ confirmed that Żuravit S·O·S®, a dietary supplement with cranberry fruit extract, changes those virulence factors which are responsible for bacterial adherence to epithelial cells
- ✚ demonstrated that certain pentacyclic triterpenes possess an antibacterial effect; the results of this study will contribute to the knowledge of their biological properties
- ✚ proved that pentacyclic triterpenes demonstrate synergistic activity with ciprofloxacin, inhibiting the formation or aiding the eradication of biofilm from the surface of catheters

## 5. DESCRIPTION OF OTHER SCIENTIFIC AND RESEARCH ACHIEVEMENTS

I began my career as a scientist at the Department of Microbiology of the Institute of Genetics and Microbiology at the University of Wrocław. Dr hab. Jan Kołodyński was my mentor and supervisor of my licentiate project titled "*Causes and effects of bacterial resistance to antibiotics*" and my master's thesis titled "*Characteristics of selected enzymatic activities of staphylococci isolated from clinical specimens*". On 16 June 1997 I defended my master's thesis with the final grade of very good. The results of my research were published shortly after in 1998. [Wojnicz D., Jankowski S., Kołodyński J.: Characteristics of selected enzymatic activities of staphylococci isolated from clinical specimens. **Adv.Clin.Exp.Med.** 1998,7 (3) 293-298; Pkt. MNiSW/KBN: 3.00]

As a master of biology I was employed in a technical role at the Department of Biology and Medical Parasitology, Faculty of Medicine at the Medical Academy in Wrocław (currently known as the Medical University). Under the supervision of Dr Jerzy Okulewicz I was responsible for preparing parasitological preparations designed for biometric tests and species identification of parasitic worms. These preparations are still in use as teaching aids in classes conducted for students of medicine, dentistry, pharmaceutical science, analytics and the English Division.

In 1998 I joined the research team of Prof. Dr hab. Stanisław Jankowski as a assistant lecturer. My research concentrated on the effect of subinhibitory doses of amikacin and ciprofloxacin on bacterial survival and virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli* strains including the hydrophobicity of the bacterial cell surface; ability to hemagglutination of erythrocytes; synthesis of haemolysins, capsules, and adhesion to uroepithelial cells. Bacterial strains used in these experiments were deliberately selected from among those responsible for frequent and recurrent infections of the different sections of the urinary tract in humans. This type of infection poses a serious clinical and therapeutic problem. The reason for the use of subinhibitory concentrations of drugs for the purpose of the research was that in the course of an antibiotic therapy, pathogenic bacteria are exposed an antibiotic concentration below the minimum inhibitory concentration (MIC) level for more than half of the time between subsequent doses administered to the patient. Sub-MIC concentrations do not kill or completely inhibit the growth of bacteria, but they limit

or reduce the expression of pathogenic features. The observations made by optical and electron microscopy in the course of this research revealed certain changes in the morphology of bacterial cells which were exposed to subinhibitory drug concentrations which affected the shape and size of intracellular organelles. The results obtained appeared to be of significance for microbiological diagnostics where shape and specific post-divisional organization of bacterial cells are critical for their identification and classification at the genus and species levels. The results gathered at that stage provided a firm basis to prepare my Ph.D. thesis. My thesis on "*The effect of subinhibitory concentrations of amikacin and ciprofloxacin on the properties of Escherichia coli rods isolated from the urine of children with urinary tract infections*" was presented and successfully defended on 18 November 2005 and followed the Doctor of Medical Science degree.

The research completed as part of my Ph.D. thesis was the subject of 5 publications in national and international journals:

- **Wojnicz D.,** Cisowska A., Jankowski S., Doroszkiewicz W.: Wpływ stężeń podprogowych amikacyny na hydrofobowość powierzchni pałeczek *Escherichia coli* izolowanych od dzieci z zakażeniami układu moczowego. [The effect of subinhibitory concentrations of amikacin on surface hydrophobicity of *Escherichia coli* rods isolated from children with urinary tract infections.] **Pol.Merkur.Lek.** 2002, 12 (71) 387-390. Pkt. MNiSW/KBN: 4.00
- **Wojnicz D.,** Jankowski S: Effects of subinhibitory concentrations of amikacin and ciprofloxacin on the hydrophobicity and adherence to epithelial cells of uropathogenic *Escherichia coli* strains. **Int.J.Antimicrob.Agents** 2007, 29 (6) 700-704. IF: 2.338, Pkt. MNiSW/KBN: 20.00
- **Wojnicz D.,** Kłak M., Adamski R., Jankowski S.: Influence of subinhibitory concentrations of amikacin and ciprofloxacin on morphology and adherence ability of uropathogenic strains. **Folia Microbiol.** 2007, 52 (4) 429-436. IF: 0.989, Pkt. MNiSW/KBN: 15.00
- **Wojnicz D.:** Virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli* strains isolated from children with chronic pyelonephritis. **Adv.Clin.Exp.Med.** 2007,16 (5) 651-657. Pkt. MNiSW/KBN: 5.00
- **Wojnicz D.,** Cisowska A.: Composition of the outer membrane proteins of *Escherichia coli* strains in relation to serum susceptibility after exposure to subinhibitory concentrations of amikacin and ciprofloxacin. **Int.J.Antimicrob.Agents** 2009, 33 (6) 579-582. IF: 3.032, Pkt. MNiSW/KBN: 27.00

Some of the results quoted in the thesis were presented at two national conferences and two international conferences:

- **Wojnicz D.**, Cisowska A., Jankowski S., Doroszkiewicz W.: Wpływ stężeń podprogowych amikacyny na hydrofobowość powierzchni pałeczek *Escherichia coli* izolowanych od dzieci z zakażeniami układu moczowego (ZUM). [The effect of subinhibitory concentrations of amikacin on surface hydrophobicity of *Escherichia coli* rods isolated from children with urinary tract infections (UTIs).]

**V Sympozjum Polskiego Towarzystwa Nefrologii Dziecięcej [V Symposium of the Polish Society of Paediatric Nephrology]** Białowieża, 24-25 May 2002

- **Wojnicz D.**, Jankowski S.: Wpływ stężeń podprogowych (SUB-MIC) amikacyny i ciprofloksacyny na syntezę alfa-hemolizyny przez szczepy *Escherichia coli*. [The effect of subinhibitory concentrations (SUB-MIC) amikacin and ciprofloxacin on alpha-haemolysin synthesis by *Escherichia coli* strains.] Post.Mikrobiol. 2004 T.43 supl.1; s.150 poz.P-92

**XXV Jubileuszowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów [XXV Jubilee Congress of the Polish Society of Microbiologists]** Bydgoszcz, 23-25 September 2004

- **Wojnicz D.**, Jankowski S.: The influence of subinhibitory concentrations of amikacin and ciprofloxacin on the morphology of uropathogenic *Escherichia coli* strains.

**International Weigl Conference** "Microorganisms in pathogenesis and their drug resistance". Lviv (Ukraine), September 14, 2003

- **Wojnicz D.:** The effect of subinhibitory concentrations (sub-MICs) of amikacin and ciprofloxacin on adherence of P-fimbriated *Escherichia coli* strains to human epithelial cells. Clin.Microbiol.Infect. 2004,10 suppl.3; 336 poz.P1217;

**14<sup>th</sup> European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.** Prague (Czech Republic), 1-4 May 2004

- **Wojnicz D.**, Cisowska A., Jankowski S.: The effect of sub-inhibitory concentration (sub-MIC) of amikacin and ciprofloxacin on the loss of capsular antigen K1 by *Escherichia coli* strains. Clin.Microbiol.Infect. 2004, 10 suppl.3; 109 poz.P501;

**14<sup>th</sup> European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.** Prague (Czech Republic), 1-4 May 2004

Between 2002 and 2005, I also engaged in parasitological research in addition to my microbiological research including a study completed in cooperation with **the Department of Periodontology and the Department and Clinic of Maxillofacial Surgery and the Department and Clinic of Haematology, Blood Neoplasms and Bone Marrow Transplantation** at the Medical Academy (currently known as



Medical University) that determined the occurrence of *Trichomonas tenax* and *Entamoeba gingivalis* in patients hospitalised in the above Clinics. The findings also covered relationships between the presence of these parasites and the type of disease diagnosed in the patient. With some differences of opinion as to the role of the two protozoa species in diseases of soft and hard tissues of the facial skeleton and whether they are commensals or pathogens, the results turned out to be very important. They prompted us to conclude that protozoa of the *Entamoeba* genus should be perceived as pathogenic for humans.

Part of the results were published in the following publications:

- Kaczkowski H., Sarowska J., **Wojnicz D.**, Nowicka J., Kozłowski Z., Jankowski S.: Występowanie *Entamoeba gingivalis* i *Trichomonas tenax* w jamie ustnej u chorych na ostre białaczki i nowotwory układu limforetykularnego. [The presence of *Entamoeba gingivalis* and *Trichomonas tenax* in the oral cavity in patients with acute leukaemia and cancer of the lymphoreticular system.] **Dent. Med. Probl.** 2004, 41 (4) 683-685. Pkt. MNiSW/KBN: 3.00
- Sarowska J., **Wojnicz D.**, Kaczkowski H., Jankowski S.: Występowanie *Entamoeba gingivalis* i *Trichomonas tenax* u pacjentów ze schorzeniami przyzębia, w stanie immunosupresji i z chorobami genetycznymi. [The occurrence of *Entamoeba gingivalis* and *Trichomonas tenax* in patients with periodontal disease, immunosuppression and genetic diseases.] **Adv.Clin.Exp.Med.** 2004 Vol.13 no.2; s.291-297. Pkt. MNiSW/KBN: 5.00

Other results were presented at national and international conferences:

- Sarowska J., **Wojnicz D.**, Kaczkowski H.: The preliminary report concerning occurrence of *Entamoeba gingivalis* in patients with periodontal diseases hospitalized in Department of Maxillo-Facial Surgery Medical University of Wrocław. *Wiad. Parazytol.* 2003 T.49 nr 1; s.98

**XIV Wrocławska Konferencja Parazytologiczna** pt. "Parazytologia na przełomie XX/XXI wieku" [**XIV Wrocław Parasitological Conference** titled "Parasitology at the turn of the XX and XXI century"] Wrocław, 18 Oktober 2002

- Kaczkowski H., Sarowska J., **Wojnicz D.**, Adamowska-Pajor M.: Występowanie pełzaka dziąsłowego (*Entamoeba gingivalis*) w schorzeniach tkanek miękkich i kośćca twarzy w materiale Kliniki Chirurgii Szcękowo-Twarzowej AM we Wrocławiu. [*Entamoeba gingivalis* prevalence in soft tissues and face skeleton diseases based on the material of Maxillofacial Surgery Dept. of Wrocław University of Medicine.]

**IV Kongres Polskiego Towarzystwa Chirurgii Jamy Ustnej i Chirurgii Szczęko-Twarzowej** [IV Congress of the Polish Society of Oral Surgery and Maxillofacial Surgery] Białystok, 22-24 May 2003

- Sarowska J., **Wojnicz D.**, Kaczkowski H., Adamowska-Pajor M.: Zarażenie pełzakiem dziąsłowym (*Entamoeba gingivalis*) jako niedoceniony problem kliniczny. [Infection with *Entamoeba gingivalis* as unacknowledged clinical problem].

**XVI Zjazd Polskiego Towarzystwa Epidemiologów i Lekarzy Chorób Zakaźnych "Współczesne problemy chorób zakaźnych" [XVI Congress of the Polish Epidemiologic Society and Infectious Disease Physicians "Contemporary problems of infectious diseases"]** Białystok, 5-7 June 2003

- Kozłowski Z., Konopka K., **Wojnicz D.**, Sarowska J.: Występowanie *Entamoeba gingivalis* u pacjentów z przewlekłym zapaleniem przyzębia. [The occurrence of *Entamoeba gingivalis* in patients with chronic periodontitis]. Czas. Stomatol. 2004 T.57 nr 4 supl.; s.129

**Jubileuszowy X Kongres Stomatologów Polskich [X Jubilee Congress of the Polish Dental Society]** Wrocław, 22-24 April 2004

- Kaczkowski H., **Wojnicz D.**, Sarowska J., Rabczyński J., Woytoń H.: Występowanie pełzaka dziąsłowego (*E. gingivalis*) i rzęsistka policzkowego (*T. tenax*) w przewlekłym zapaleniu zatoki szczękowej. [The occurrence of *Entamoeba gingivalis* and *Trichomonas tenax* in chronic maxillary sinus].

**VI Kongres Polskiego Towarzystwa Chirurgii Jamy Ustnej i Chirurgii Szczękowo-Twarzowej "Polska Chirurgia Szczękowo-Twarzowa - gdzie jesteśmy, dokąd zmierzamy?" [VI Congress of the Polish Society of Oral Surgery and Maxillofacial Surgery "Polish Maxillofacial Surgery - where we are, where we are going?"]** Zamek Książ k/Wałbrzycha, 27-29 September 2007

- Sarowska J., **Wojnicz D.**, Kaczkowski H., Jankowski S.: The occurrence of *Entamoeba gingivalis* in soft tissues and face skeleton diseases in patients hospitalized in Department of Maxillofacial Surgery Medical University of Wrocław.

**International Weigl Conference "Microorganisms in pathogenesis and their drug resistance"**, Lviv (Ukraine), September 14, 2003

- **Wojnicz D.**, Sarowska J., Kozłowski Z.: The occurrence of *Entamoeba gingivalis* in patients with periodontal diseases. Clin.Microbiol.Infect. 2004, 10 suppl.3; 150.

**14<sup>th</sup> European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.** Prague (Czech Republic), 1-4 May 2004

Between 2000 and 2008 I was also collaborating with the research teams of **the Department of Microbiology of the Institute of Genetics and Microbiology, Wrocław University** and **the Microbiology Laboratory of the Lower Silesia J. Korczak Centre for Paediatrics in Wrocław.**

The output of that research effort includes:

- 1) drug resistance analysis of gram-positive and gram-negative bacteria isolated *inter alia* from urine of patients with urinary tract infections; infected

postoperative wounds, and specimens obtained from Intensive Medical Care Unit patients;

- 2) analysis of the occurrence and drug resistance of non-fermenting rods in children hospitalised at the Lower Silesia J. Korczak Centre for Paediatrics in Wrocław;
- 3) the effect of human serum on the survival of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated by bronchoalveolar lavage from children with hospital-acquired pneumonia.

On the basis of this cooperation the following publications were presented:

- Lewczyk E., **Wojnicz D.**, Drulis-Kawa Z., Doroszkiewicz W., Jankowski S.: Wrażliwość na wybrane antybiotyki ziarniaków gram-dodatnich, pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae* oraz pałeczek niefermentujących izolowanych z zakażonych ran pooperacyjnych. [Sensitivity to selected antibiotics of gram-positive coccus, *Enterobacteriaceae* bacilli and non-fermentative bacilli isolated from postoperative wounds infection.] **Adv.Clin.Exp.Med.** 2001,10 (3) 211-220. **Pkt. MNiSW/KBN: 3.00**
- Cisowska A, Lewczyk E., Korzekwa K., **Wojnicz D.**, Jankowski S., Doroszkiewicz W.: Ocena wrażliwości na antybiotyki drobnoustrojów wyizolowanych od dzieci chorych na zakażenia układu moczowego. [Evaluation of sensitivity to antibiotics of microorganisms isolated from children with urinary tract infections.] **Pol.Merkur.Lek.** 2003, 14 (82) 322-326. **Pkt. MNiSW/KBN: 5.00**
- **Wojnicz D.**, Korzekwa K., Kąkol A., Doroszkiewicz W.: Występowanie i lekooporność na antybiotyki szczepów bakteryjnych izolowanych od pacjentów hospitalizowanych w oddziałach intensywnej terapii. [The occurrence and drug resistance to antibiotics of bacterial strains isolated from patients hospitalized in the intensive care units.] **Med.Dośw.Mikrobiol.** 2007, 59 (1) 75-84. **Pkt. MNiSW/KBN: 5.00**
- Korzekwa K., **Wojnicz D.**, Doroszkiewicz W., Jankowski S.: Występowanie i lekooporność pałeczek niefermentujących izolowanych od pacjentów hospitalizowanych w Dolnośląskim Centrum Pediatrycznym we Wrocławiu w latach 2000-2006. [The occurrence and drug resistance of non-fermenting rods isolated from patients hospitalized in the Lower Silesian Paediatrics Centre in Wrocław in 2000-2006.] **Med.Dośw.Mikrobiol.** 2008, 60 (2) 101-110. **Pkt. MNiSW/KBN: 9.00**
- **Wojnicz D.**, Korzekwa K., Cisowska A.: Bakteriobójcza aktywność surowicy ludzkiej wobec pałeczek *Pseudomonas aeruginosa* charakteryzujących się hydrofilną lub hydrofobową powierzchnią komórek. [Bactericidal activity of human serum against *Pseudomonas aeruginosa* with hydrophilic or hydrophobic surface of the cells.] **Med.Dośw.Mikrobiol.** 2008, 60 (4) 303-309. **Pkt. MNiSW/KBN: 9.00**

Following the award of my doctoral degree (November 2005) my research and scientific interest and effort centred around the problems of urinary tract infections and continued as part of:

- statutory project between 2004 and 2006 “Combined effect of complement, amikacin and ciprofloxacin in bactericidal action”

This research on the combined bactericidal effect of subinhibitory doses of amikacin, ciprofloxacin and normal human serum showed the occurrence of synergism in 25% of uropathogenic *Escherichia coli* strains. The other strains remained insensitive to the combined effect of subinhibitory concentrations of the two agents. The results indicate that strains of the same genus may show differences in susceptibility to a simultaneous effect of serum and antibiotics.

- statutory project between 2007 and 2009, Project No. ST-98 “The effect of subinhibitory doses of selected antibiotics on capsular antigen formation in *Escherichia coli* strains”.

This study was a continuation of the earlier experiments that had already been launched before the defence of my doctorate thesis. Their aim was to determine the effect of subinhibitory doses of amikacin and ciprofloxacin (0.5xMIC, 0.25xMIC, 0.125xMIC) on the loss of K1 capsular antigen by uropathogenic *Escherichia coli* strains. Control samples (without antibiotic) showed 97%-98% of K1-encapsulated clones. The incubation of bacteria in subinhibitory concentrations of ciprofloxacin reduced that value down to 73%-82%. In the case of bacteria incubated in subinhibitory concentrations of amikacin the proportion of encapsulated clones was only slightly lower (90%-93%) as compared with the control sample. What was additionally determined in the course of the research was the effect of subinhibitory concentrations of the two antibiotics on the susceptibility of K1-encapsulated *Escherichia coli* to neutrophil phagocytosis. Blood smear preparations were used to count bacterial cells absorbed by 50 neutrophils and a phagocytic index was subsequently calculated for each tested strain. The index value for the control samples (drug-free incubation) was  $10.2 \pm 1.6$ – $12.24 \pm 1.8$ . The presence of ciprofloxacin in a rod culture increased susceptibility to phagocytosis with the mean count of bacterial cells absorbed by phagocytes being  $13.4 \pm 1.4$ – $19.2 \pm 1.5$ . A changed susceptibility to phagocytosis was noted in most K1-encapsulated *Escherichia coli*

strains incubated with amikacin but only at 0.5xMIC concentration. The phagocytic index values ranged between 12.78±1.8 and 16.22±1.5. The research results were published:

- **Wojnicz D.**, Tichaczek-Goska D., Cisowska A.: Effect of subinhibitory concentrations of amikacin and ciprofloxacin on the K1 antigen expression and phagocytosis of *Escherichia coli* strains. **Adv.Clin.Exp.Med.** 2010 Vol.19 no.4; s.429-436. IF: 0.103, Pkt. MNiSW/KBN: 13.00

With the current data indicating a growing antibiotic and chemotherapeutic resistance of bacteria to the therapy of urinary tract infections, I decided to explore the antibacterial potential of selected plant preparations and since 2009 I have been engaged in the following projects and studies:

- own research between 2009 and 2011, Project No. 1906 „The effect of plant extracts on the survival and ability of biofilm formation by *Escherichia coli* strains isolated from urine of patients with urinary tract infections”.

The research results and output are included and published in the habilitation procedure as part of my scientific achievements (Wojnicz D. et al., Urological Research 2012)

- post-doctoral scientific grant awarded in 2011 under the “Development Program of the Medical Academy in Wrocław” funded by the European Social Fund.

The research results and output are part of my scientific achievements included and published in my habilitation procedure (Wojnicz D. et al., Turkish Journal of Biology 2013; Wojnicz D. et al., Folia Microbiologica 2013; Wojnicz D. et al., Indian Journal of Medical Research 2015)

My manuscript discussing the effect of pentacyclic triterpenes on gram-positive uropathogenic *Enterococcus faecalis* strains is currently under review for the journal *Pharmaceutical Biology*:

- **Wojnicz D.**, Tichaczek-Goska D., Kicia M., Hendrich A.B. Protective effect of pentacyclic triterpenes in urinary tract infections.

- statutory work between 2011 and 2013, Project No. ST-565 „The commercial aspects of the effect plant extracts containing anthocyanins on cell surface and virulence features of gram-negative and gram-positive bacteria”

The research results are part of my scientific achievements included and published in the habilitation procedure (Wojnicz D. et al., *Phytomedicine* 2012)

My manuscript discussing the effect of a concentrated extract from the fruit of *Vaccinium macrocarpon* on gram-positive uropathogenic *Enterococcus faecalis* strains is currently under review for the journal *Plant Foods in Human Nutrition*:

- **Wojnicz D.**, Tichaczek-Goska D., Korzekwa K., Kicia M., Hendrich A.B. Concentrated cranberry extract as a nutritional source preventing urinary tract infections

Between 2010 and 2013 I was a contributor to the work carried out under Project No. N N312 263638 „Protection of lipid membranes from free radicals *in vitro* by natural polyphenolic substances from the family *Rosaceae* and their biological anti-inflammatory and antibacterial properties” of the team of Prof. Dr hab. Janina Gabrielska of the Wrocław University of Environmental and Life Sciences. The results were partially presented as conference communications:

- Kucharska A.Z., **Wojnicz D.**, Cisowska A., Walkowski S., Sokół-Łętowska A., Włoch A., Żbikowska B., Sroka Z., Hendrich A.B., Gabrielska J.: Antibacterial and antioxidant activity of some polyphenol extracts of *Rosaceae* family.

**Analytical methods to study oxidative damage, antioxidants and drugs.** Białystok, 10-13.11.2011.

- Kucharska A.Z., Sokół-Łętowska A., **Wojnicz D.**, Cisowska A., Walkowski S., Dudra A., Żbikowska B., Sroka Z., Hendrich A.B., Gabrielska J.: Przeciwtleniające i przeciwbakteryjne właściwości ekstraktów polifenolowych z owoców róży. [The antioxidant and antimicrobial properties of polyphenolic extracts from the rose fruits.]

**I Konferencja Naukowa "Róże owocowe w uprawie, przetwórstwie, żywieniu i ochronie zdrowia" [I Scientific Conference "Fruity roses in cultivation, processing, nutrition and health protection"]** Warszawa, 8.12.2011.

The above collaboration was followed by a publication:

- Strugała P., Dudra A., Kucharska A.Z., Sokół-Łętowska A., **Wojnicz D.**, Cisowska A., Walkowski S., Sroka Z., Gabrielska J., Hendrich A.B.: Biological activity of the methanol and water extracts of the fruits of anthocyanin-rich plants grown in

South-West Poland. **Nat.Prod.Commun.** 2015 Vol.10 no.3; s.467-474. IF: 0.906, Pkt. MNiSW/KBN: 20.00

I am a co-author and corresponding author of a publication currently under review for the journal *Plant Foods In Human Nutrition*:

- Hendrich A.B., Strugała P., Dudra A., Kucharska A.Z., Sokół-Łętowska A., **Wojnicz D.**, Cisowska A., Sroka Z., Gabrielska J.: Microbiological, anti-inflammatory and antioxidant activities of fruit extracts of chosen *Rosaceae* family members.

Since June 2015 I have been collaborating with the Department of Pharmacognosy of Wrocław Medical University. The initial preliminary research has allowed us to determine the minimum inhibitory concentrations (MICs) of plant extracts from black elder (*Sambucus nigra*) and common rock-rose (*Helianthemum nummularium* subsp. *obscurum*) against uropathogenic *Escherichia coli* strains. The results obtained to-date will be used in further research aimed at determining the effect of plant extracts on the pathogenic features of gram-positive and gram-negative bacteria responsible for infections of the urinary tract.

### **Prospective research and studies**

My immediate plan is to continue and expand my research on the methods and mechanisms involved in the activity of natural compounds and their effects on gram-positive and gram-negative bacteria. The auspicious results that I have already obtained on antibacterial and anti-biofilm effects of pentacyclic triterpenes, i.e. asiatic acid and ursolic acid, give sufficient ground to explore this avenue of research.

The next step towards a better and complete understanding of the interaction between bacteria and plant compounds is to determine the molecular mechanism employed by such compounds as they act on uropathogenic strains in biofilms. Depending on their growth phase microbes, which are biofilm components, show a varied engagement of their virulence factors and for that reason I plan to determine transcript levels of selected genes (RT-PCR method) in bacteria exposed to pentacyclic triterpenes at the three stages of biofilm formation:

- 1) adherence of rods to an abiotic surface and rods aggregation
- 2) maturation/development of a biofilm
- 3) dispersal of bacterial cells from the biofilm structure (eradication).

The anticipated research is expected to advance knowledge and afford a better insight into the mechanisms employed by plant compounds as they act on the biofilm structure at the different stages of its formation.



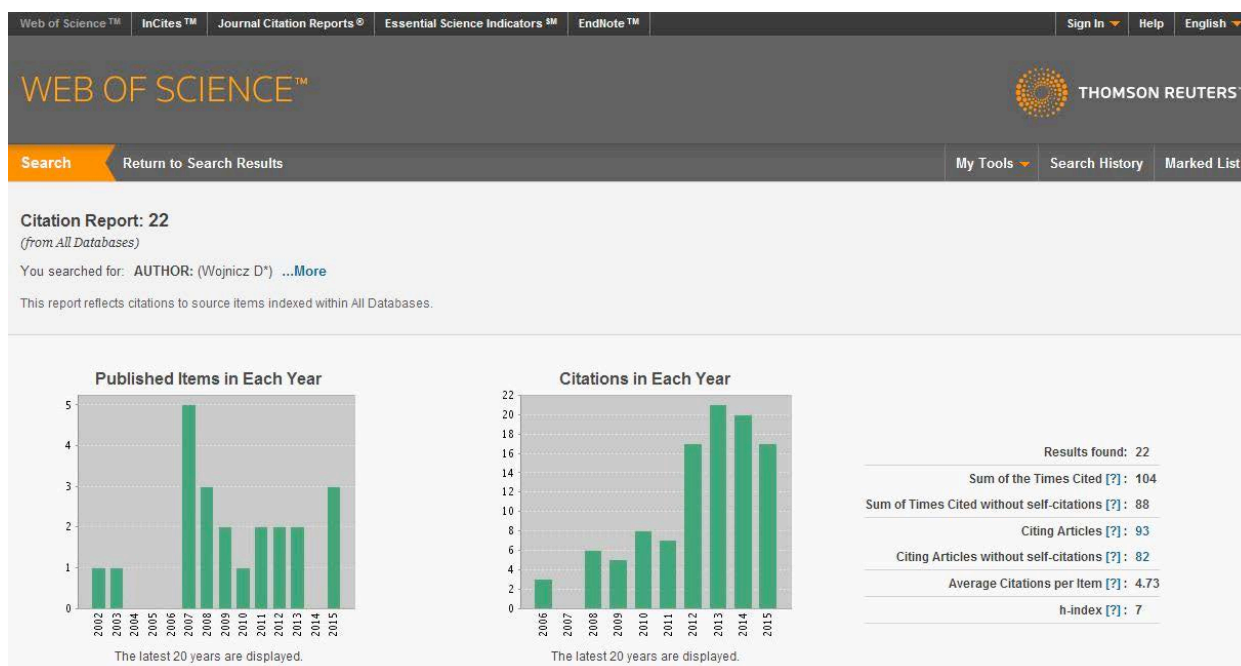
**COMPLETE SCIENTIFIC ACHIEVEMENT INCLUDES:**

SCIENTIFIC ACHIEVEMENT BEFORE OBTAINING THE DEGREE OF PhD	n	Impact factor (IF)	Points MNiSW/KBN
<b>SCIENTIFIC PUBLICATIONS</b>			
Original researches (total)	5	---	18
• corresponding and/or first author	2		
• co-author	3		
Review papers (total)	4	---	17
• corresponding and/or first author	3		
• co-author	1		
<b>PUBLICATIONS (TOTAL NUMBER)</b>	<b>9</b>		<b>35</b>
<b>CONFERENCE REPORTS</b>			
• international	5		
• national	9		
SCIENTIFIC ACHIEVEMENT AFTER OBTAINING THE DEGREE OF PhD	n	Impact factor (IF)	Points MNiSW/KBN
<b>SCIENTIFIC PUBLICATIONS</b>			
Original researches* (total)	17	16.693	270
• corresponding and/or first author	14		
• co-author	3		
Review papers (total)	3	1.242	31
• corresponding and/or first author	2		
• co-author	1		
<b>Publications indicated as a significant achievement (total)</b> according to art. 16 par. 2 of the act of 14 March 2003 on academic degrees and titles as well as degrees and title within the scope of art. (Journal of Laws of 2003, no. 65, item 595, as amended)	<b>5</b>	<b>8.585</b>	<b>110</b>
• corresponding and/or first author	5		
• co-author			
<b>PUBLICATIONS (TOTAL NUMBER)</b>	<b>20</b>	<b>17.935</b>	<b>301</b>
<b>CONFERENCE REPORTS</b>			
• international	3		
• national	7		
<b>CHAPTERS IN MONOGRAPHS, TEXTBOOKS AND SCRIPTS</b>			
• in Polish	1		
• in English	2		12

\* - with publications indicated as a significant achievement, n – number of publications

The list of scientific publications, conference reports, and bibliometric analysis of scientific achievements prepared by the Library of the Silesian Piasts Medical University in Wrocław are included in Appendix 3.

CITATION REPORT ACCORDING TO WEB OF SCIENCE	
03.09.2015	
<b>Total numbers of citations</b>	<b>104</b>
<b>Total numbers of citations without self-citations</b>	<b>88</b>
<b>h-index</b>	<b>7</b>



## 6. TEACHING AND POPULARIZING ACHIEVEMENTS, INFORMATION ABOUT NATIONAL AND INTERNATIONAL COOPERATION

### 6.1. PARTICIPATION IN INTERNATIONAL AND NATIONAL SCIENTIFIC CONFERENCES

#### After obtaining the degree of PhD

#### **Poster presentation**

##### International conferences

1. **Wojnicz D.**, Cisowska A.: The effect of anthocyanins on the biofilm formation by *Escherichia coli* strains. Sepsis 2011 T.4 nr 1; s.143.  
*Polish-Ukrainian Weigl Conference "From microbiology to synthetic biology".*  
Wrocław, May 18-20, 2011.
2. Cisowska A., **Wojnicz D.**: Influence of the pure anthocyanins on some virulence factors of *Escherichia coli* strains. Sepsis 2011 T.4 nr 1; s.100-101.  
*Polish-Ukrainian Weigl Conference "From microbiology to synthetic biology".*  
Wrocław, May 18-20, 2011.
3. Kicia M., **Wojnicz D.**, Sycz Z., Hendrich A.B.: The effect of Żuravit SOS on virulence factors and cardiolipin domains morphology of uropathogenic *Escherichia coli* strains. Sepsis 2011 T.4 nr 1; s.112-113.  
*Polish-Ukrainian Weigl Conference "From microbiology to synthetic biology".*  
Wrocław, May 18-20, 2011.

##### National conferences

1. Kaczkowski H., **Wojnicz D.**, Sarowska J., Rabczyński J., Woytoń H.: Występowanie pełzaka dziąsłowego (*E. gingivalis*) i rzęsiotka policzkowego (*T. tenax*) w przewlekłym zapaleniu zatoki szczękowej. [The occurrence of *Entamoeba gingivalis* and *Trichomonas tenax* in chronic maxillary sinus].  
*VI Kongres Polskiego Towarzystwa Chirurgii Jamy Ustnej i Chirurgii Szczękowo-Twarzowej "Polska Chirurgia Szczękowo-Twarzowa - gdzie jesteśmy, dokąd zmierzamy?" [VI Congress of the Polish Society of Oral Surgery and Maxillofacial Surgery "Polish Maxillofacial Surgery - where we are, where we are going?"]*  
Zamek Książ k/Wałbrzycha, 27-29 September 2007.

- 2. Wojnicz D.**, Korzekwa K., Jaworska A.: Aktywność bakteriobójcza surowicy wobec pałeczek *Pseudomonas aeruginosa* izolowanych z popłuczyn oskrzelikowo-pęcherzykowych. [Serum bactericidal activity against *Pseudomonas aeruginosa* rods isolated from bronchoalveolar lavage].  
*XXVI Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów "Drobnoustroje - wyzwania i nadzieje"* [XXVI Congress of the Polish Society of Microbiologists "Microbes - challenges and hopes"] Szczecin, 4-7 September 2008.
- 3.** Korzekwa K., **Wojnicz D.**: Tworzenie biofilmu przez szczepy *Pseudomonas aeruginosa* izolowane z popłuczyn oskrzelikowo-pęcherzykowych. [Biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* isolated from bronchoalveolar lavage].  
*XXVI Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów "Drobnoustroje - wyzwania i nadzieje"* [XXVI Congress of the Polish Society of Microbiologists "Microbes - challenges and hopes"] Szczecin, 4-7 September 2008.
- 4.** Kucharska A.Z., **Wojnicz D.**, Cisowska A., Walkowski S., Sokół-Łętowska A., Włoch A., Żbikowska B., Sroka Z., Hendrich A.B., Gabrielska J.: Antibacterial and antioxidant activity of some polyphenol extracts of *Rosaceae* family.  
*„Analytical methods to study oxidative damage, antioxidants and drugs”*. Białystok, 10-13 November 2011.
- 5.** Kucharska A.Z., Sokół-Łętowska A., **Wojnicz D.**, Cisowska A., Walkowski S., Dudra A., Żbikowska B., Sroka Z., Hendrich A.B., Gabrielska J.: Przeciwuutleniające i przeciwbakteryjne właściwości ekstraktów polifenolowych z owoców róży. [Antioxidant and antibacterial properties of polyphenolic extracts from fruits rose].  
*I Konferencja Naukowa "Róże owocowe w uprawie, przetwórstwie, żywieniu i ochronie zdrowia"* [I Scientific Conference "Fruity roses in cultivation, processing, nutrition and health protection"] Warszawa, 8 December 2011.
- 6. Wojnicz D.**, Sycz Z., Walkowski S., Gabrielska J., Włoch A., Kucharska A.Z., Sokół-Łętowska A., Hendrich A.B.: Antyoksydacyjne właściwości ekstraktu z owoców żurawiny wielkoowocowej i jego wpływ na czynniki wirulencji uropatogennych szczepów *Escherichia coli*. [Antioxidant properties of the cranberry fruits extract and its impact on virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli* strains].

XXVII Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów "Drobnoustroje bez granic"  
[XXVII Congress of the Polish Society of Microbiologists] Lublin, 5-8 September  
2012.

7. Tichaczek-Goska D., **Wojnicz D.**, Kicia M.: Wpływ wyciągów roślinnych stosowanych w polskiej medycynie ludowej na czynniki wirulencji i formowanie biofilmu przez uropatogenny szczep *Escherichia coli*. [The effect of plant extracts used in Polish folk medicine on virulence factors and biofilm formation by uropathogenic *Escherichia coli* strain].

XXVII Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów "Drobnoustroje bez granic"  
[XXVII Congress of the Polish Society of Microbiologists] Lublin, 5-8 September  
2012.

#### Before obtaining the degree of PhD

#### **Poster presentation**

##### International conferences

1. **Wojnicz D.**, Jankowski S.: The influence of subinhibitory concentrations of amikacin and ciprofloxacin on the morphology of uropathogenic *Escherichia coli* strains.

*International Weigl Conference* "Microorganisms in pathogenesis and their drug resistance". Lviv (Ukraine), 11-14 September 2003.

2. Sarowska J., **Wojnicz D.**, Kaczkowski H., Jankowski S.: The occurrence of *Entamoeba gingivalis* in soft tissues and face skeleton diseases in patients hospitalized in Department of Maxillofacial Surgery Medical University of Wrocław.

*International Weigl Conference* "Microorganisms in pathogenesis and their drug resistance". Lviv (Ukraine), 11-14 September 2003.

3. **Wojnicz D.**, Cisowska A., Jankowski S.: The effect of sub-inhibitory concentration (sub-MIC) of amikacin and ciprofloxacin on the loss of capsular antigen K1 by *Escherichia coli* strains. *Clin.Microbiol.Infect.* 2004 Vol.10 suppl.3; s.109 poz.P501  
*14th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.* Prague (Czech Republic), 1-4 May 2004.

4. **Wojnicz D.**: The effect of subinhibitory concentrations (sub-MICs) of amikacin and ciprofloxacin on adherence of P-fimbriated *Escherichia coli* strains to human epithelial cells. Clin.Microbiol.Infect. 2004 Vol.10 suppl.3; s.336 poz.P1217  
*14th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. Prague (Czech Republic), 1-4 May 2004.
5. **Wojnicz D.**, Sarowska J., Kozłowski Z.: The occurrence of *Entamoeba gingivalis* in patients with periodontal diseases. Clin.Microbiol.Infect. 2004 Vol.10 suppl.3; s.150 poz.P636  
*14th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. Prague (Czech Republic), 1-4 May 2004.

#### National conferences

1. Lewczyk E., Drulis-Kawa Z., **Wojnicz D.**, Doroszkiewicz W., Jankowski S.: Sensitivity of *Enterobacteriaceae* family strains, nonfermentative strains and gram-positive cocci isolated from pus to some antibiotics. Med.Sci.Monit. 2000 Vol.6 suppl.3; s.75 abstr.B-5/P-10  
*XXIV Congress of the Polish Society of Microbiologists*. Białystok, 12-15 September, 2000.
2. Cisowska A., Korzekwa K., Lewczyk E., **Wojnicz D.**, Jankowski S., Doroszkiewicz W.: Ocena wrażliwości drobnoustrojów wyizolowanych z zakażeń układu moczowego (ZUM) u dzieci na antybiotyki. [Evaluation of sensitivity to antibiotics of microorganisms isolated from children with urinary tract infections (UTIs)].  
*V Sympozjum Polskiego Towarzystwa Nefrologii Dziecięcej [V Symposium of the Polish Society of Paediatric Nephrology]* Białowieża 24-25 May 2002.
3. **Wojnicz D.**, Cisowska A., Jankowski S., Doroszkiewicz W.: Wpływ stężeń podprogowych amikacyny na hydrofobowość powierzchni pałeczek *Escherichia coli* izolowanych od dzieci z zakażeniami układu moczowego (ZUM). [The effect of subinhibitory concentrations of amikacin on surface hydrophobicity of *Escherichia coli* rods isolated from children with urinary tract infections (UTIs)].  
*V Sympozjum Polskiego Towarzystwa Nefrologii Dziecięcej [V Symposium of the Polish Society of Paediatric Nephrology]* Białowieża 24-25 May 2002.

4. Kaczkowski H., Sarowska J., **Wojnicz D.**, Adamowska-Pajor M.: Występowanie pełzaka dziąsłowego (*Entamoeba gingivalis*) w schorzeniach tkanek miękkich i kośćca twarzy w materiale Kliniki Chirurgii Szcękowo-Twarzowej AM we Wrocławiu. [*Entamoeba gingivalis* prevalence in soft tissues and face skeleton diseases based on the material of Maxillofacial Surgery Dept. of Wrocław University of Medicine].  
*IV Kongres Polskiego Towarzystwa Chirurgii Jamy Ustnej i Chirurgii Szcękowo-Twarzowej [IV Congress of the Polish Society of Oral Surgery and Maxillofacial Surgery]* Białystok, 22-24 May 2003.
5. Sarowska J., **Wojnicz D.**, Kaczkowski H., Adamowska-Pajor M.: Zараżenie pełzakiem dziąsłowym (*Entamoeba gingivalis*) jako niedoceniony problem kliniczny. [Infection with *Entamoeba gingivalis* as unacknowledged clinical problem].  
*XVI Zjazd Polskiego Towarzystwa Epidemiologów i Lekarzy Chorób Zakaźnych "Współczesne problemy chorób zakaźnych" [XVI Congress of the Polish Epidemiologic Society and Infectious Disease Physicians "Contemporary problems of infectious diseases"]* Białystok, 5-7 June 2003.
6. Kozłowski Z., Konopka T., **Wojnicz D.**, Sarowska J.: Występowanie *Entamoeba gingivalis* u pacjentów z przewlekłym zapaleniem przyzębia. [The occurrence of *Entamoeba gingivalis* in patients with chronic periodontitis]. *Czas.Stomatol.* 2004 T.57 nr 4 supl.; s.129  
*Jubileuszowy X Kongres Stomatologów Polskich [X Jubilee Congress of the Polish Dental Society]* Wrocław, 22-24 April 2004.
7. Cisowska A., Bugła G., **Wojnicz D.**, Jankowski S., Doroszkiewicz W.: Udział białek błony zewnętrznej (OMP) w determinowaniu podatności szczepów *Escherichia coli*, produkujących  $\alpha$ -hemolizynę (HlyA+) i ich form HlyA-, na bakteriobójcze działanie surowicy pępowinowej. [Contribution of outer membrane proteins (OMPs) in determining the susceptibility of *Escherichia coli* strains, producing  $\alpha$ -hemolysin (HlyA +) and their forms HlyA-, on the bactericidal activity of cord serum]. *Post.Mikrobiol.* 2004 T.43 supl.1; s.151 poz.P-93

*XXV Jubileuszowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów [XXV Jubilee Congress of the Polish Society of Microbiologists]* Bydgoszcz, 23-25 September 2004.

- 8. Wojnicz D., Jankowski S.:** Wpływ stężeń podprogowych (SUB-MIC) amikacyny i ciprofloksacyny na syntezę alfa-hemolizyny przez szczepy *Escherichia coli*. [Effect of subinhibitory concentrations (SUB-MIC) amikacin and ciprofloxacin on alpha-hemolysin synthesis by *Escherichia coli* strains]. *Post.Mikrobiol.* 2004 T.43 supl.1; s.150 poz.P-92

*XXV Jubileuszowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów [XXV Jubilee Congress of the Polish Society of Microbiologists]* Bydgoszcz, 23-25 September 2004.

### **Oral presentation**

- 1.** Sarowska J., **Wojnicz D., Kaczkowski H.:** The preliminary report concerning occurrence of *Entamoeba gingivalis* in patients with periodontal diseases hospitalized in Department of Maxillo-Facial Surgery Medical University of Wrocław. *Wiad.Parazytol.* 2003 T.49 nr 1; s.98

*XIV Wroclawska Konferencja Parazytologiczna* pt. "Parazytologia na przełomie XX/XXI wieku" [*XIV Wrocław Parasitological Conference* titled "Parasitology at the turn of the XX and XXI century"] 18 October 2002.

- 2. Wojnicz D.:** Wstępne badania nad wpływem stężeń podprogowych amikacyny i ciprofloksacyny na występowanie białek powierzchniowych u *Escherichia coli*. [Preliminary studies on the effect of subinhibitory concentrations of amikacin and ciprofloxacin on the occurrence of surface proteins in *Escherichia coli*].

*Forum Mikrobiologów Wroclawskich* [Wrocław Microbiologist's Forum] Wrocław, 22 April 2005.

#### *6.1.1. PARTICIPATION IN THE ORGANIZATION OF NATIONAL CONFERENCE*

As an employee of the Department of Biology and Medical Parasitology I participated in the organization of the Conference KOBAM-2000, Wrocław, 10 June 2000. Also in the scientific part of this Conference I delivered a speech entitled .: "*Collectin - MBL - and its importance in the resistance of the anti-infection immunity*".



## 6.2. MEMBERSHIP IN INTERNATIONAL AND NATIONAL ORGANIZATIONS AND SCIENTIFIC SOCIETIES

Polish Society of Microbiologists (PSM) – since 2000, member.

In 2009-2012 member of Revision Committee in Wrocław Regional Branch of PSM.

## 6.3. SCIENTIFIC COOPERATION WITH INSTITUTIONS, ORGANIZATIONS AND SCIENTIFIC SOCIETIES IN THE COUNTRY AND ABROAD

1. In 2000-2008 cooperation with the Department of Microbiology of Institute of Genetics and Microbiology, University of Wrocław and cooperation with the Microbiological Laboratory, of the Lower Silesia J. Korczak Centre for Paediatric in Wrocław.
2. In 2003-2007 cooperation with the Department of Maxillofacial Surgery of Wrocław Medical University.
3. In 2003-2007 cooperation with the Department of Periodontology of Wrocław Medical University.
4. In 2003-2007 cooperation with the Department and Clinic of Haematology, Blood Neoplasms and Bone Marrow Transplantation of Wrocław Medical University.
5. Since 2009 cooperation with the Microbiological Laboratory of University Hospital name Jana Mikulicza-Radeckiego in Wrocław.
6. In 2010-2013 cooperation with the Department of Physics and Biophysics of University of Environmental and Life Sciences in Wrocław.
7. Since 2015 cooperation with the Department of Pharmacognosy of Wrocław Medical University.

## 6.4. REVIEWS OF PUBLICATIONS SUBMITTED TO INTERNATIONAL AND LOCAL JOURNALS

I am the author of **57** scientific reviews for journals:

1. ***Advances In Microbiology*** – manuscript No. 2015\_2270522
2. ***African Journal of Microbiology Research*** – manuscript No. 2014\_AJMR\_6912; 2014\_AJMR\_7034; 2014\_AJMR\_7041; 2014\_AJMR\_7045; 2014\_AJMR\_7001; 2014\_AJMR\_7057; 2014\_AJMR\_7068; 2014\_AJMR\_7156; 2015\_AJMR\_7452
3. ***African Journal of Pharmacy and Pharmacology*** – manuscript No. AJPP-19.05.15-4366
4. ***American Chemical Science Journal*** – manuscript No. 2015\_ACSJ\_20632
5. ***American Journal of Experimental Agriculture*** – manuscript No. 2015\_AJEA\_18262

6. **Annual Research & Review in Biology** – manuscript No. 2013\_ARRB\_7166; 2014\_ARRB\_12827; 2014\_ARRB\_11270
7. **Antonie van Leeuwenhoek Journal of Microbiology** – manuscript No. 2013\_ANTO-D-13-00469
8. **Brazilian Journal of Microbiology** – manuscript No. BJM\_2013\_1172
9. **British Journal of Medicine and Medical Research** – manuscript No. 2014\_BJMMR\_15115; 2015\_BJMMR\_17123; 2015\_BJMMR\_16976; 2015\_BJMMR\_19726
10. **British Journal of Pharmaceutical Research** – manuscript No. 2013\_BJPR\_3200; 2014\_BJPR\_13491; 2014\_BJPR\_12529; 2014\_BJPR\_12605; 2015\_BJPR\_20057; 2015\_BJPR\_20316
11. **British Microbiology Research Journal** – manuscript No. 2014\_BMRJ\_15108; 2015\_BMRJ\_16696; 2015\_BMRJ\_18922; Ms\_BMRJ\_20208
12. **Current Pharmaceutical Biotechnology** – manuscript No. 2014\_IT S/04/PD-02
13. **European Journal of Medicinal Plants** – manuscript No. 2015\_EJMP\_16553; 2015\_EJMP\_16237; 2015\_EJMP\_17429; 2015\_EJMP\_20489
14. **International Journal of Biochemistry Research & Review** – manuscript No. 2015\_IJBcRR\_17481
15. **International Journal of Nanomedicine** – manuscript No. 2014\_59834
16. **International Journal of Plant & Soil Science** – manuscript No. 2014\_IJPSS\_12354
17. **International Journal of TROPICAL DISEASE & Health** – manuscript No. 2015\_IJTDH\_17841; 2015\_IJTDH\_21423
18. **Journal of Global Agriculture and Ecology** – manuscript No. 2015\_JOGAE\_2194
19. **Journal of Advances in Biology & Biotechnology** – manuscript No. 2015\_JABB\_20787
20. **Journal of Advances in Medical and Pharmaceutical Sciences** – manuscript No. 2015\_JAMPS\_20550
21. **Journal of Basic and Applied Research International** – manuscript No. 2015\_JOBARI\_1578; 2015\_JOBARI\_1919; 2015\_JOBARI\_2193
22. **Journal of Biology and Nature** – manuscript No. 2015\_JOBAN\_1035; 2015\_JOBAN\_1326; 2015\_JOBAN\_1950

23. **Journal of International Research in Medical and Pharmaceutical Sciences** – manuscript No. 2015\_JIRMEPS\_816

24. **Journal of Medicinal Plants Research** – manuscript No. 2013\_JMPR-11-1226

25. **Journal of Public Health and Epidemiology** – manuscript No. JPHE-07.02.15-0716; JPHE-23.06.15-0754

26. **Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology** – manuscript No. PCBMB\_2262

27. **Translational Medicine**– manuscript No. TMCR-2013-15700

#### 6.5. . REVIEW OF RESEARCH PROJECTS

**2012** – review/assessment of the M.Sc. Lucyna Jabłońska's research project „Effect of subinhibitory concentrations of antibiotics on virulence of bacteria of genus *Aeromonas*” Faculty of Biology, Adam Mickiewicz University, Poznań.

#### 6.6. PARTICIPATION IN SCIENTIFIC PROJECTS

##### Ministerial grants (NSC):

##### **contributor:**

2. Project No. N N312 263638 (2010-2013) „Protection of lipid membranes from free radicals in vitro by natural polyphenolic substances from the family *Rosaceae* and their biological anti-inflammatory and antibacterial properties”, leader – Prof. Dr hab. Janina Gabrielska

##### Grants under the direction of Wrocław Medical University:

##### **leader:**

4. Project No. 308 (2002-2003) „Effect of subinhibitory doses of selected antibiotics on their pharmacodynamic parameters and the expression of certain of the virulence factors of *Escherichia coli* strains isolated from urinary tract infections (UTIs)”
5. Project No. 456 (2003-2005) „The occurrence of *Trichomonas tenax* and *Entamoeba gingivalis* in selected pathological changes in the oral cavity”
6. Project No. 1906 (2009-2011) „ Effect of plant extracts on the survival and ability of biofilm formation by *Escherichia coli* strains isolated from urine of patients with urinary tract infections”

**contributor:**

3. Project No. 764 (2001-2003) „Complement lytic activity on bacteria with damaged cell wall by reactive oxygen forms”, leader – Prof. Dr hab. Stanisław Jankowski
4. Project No. 4/PBmn (2011-2013) „Analysis of the impact of factors disrupting cell division on cardiolipin domains in *E. coli* cells and their participation in the formation of SOS and persisters cells”, leader – Dr Marta Kicia

Statutory research:**leader:**

4. project realized in 2001-2003 „Effect of subinhibitory doses of selected antibiotics on different virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli* strains”
5. project realized in 2004-2006 „Combined effect of complement, amikacin and ciprofloxacin in bactericidal action”
6. project No. ST-98 realized in 2007-2009 „The influence of subinhibitory doses of selected antibiotics on the formation of capsular antigens in *Escherichia coli* strains”

**contributor:**

5. project No. ST-99 realized in 2008-2010 „Bactericidal of complement system proteins against bacteria possessing the mannan in lipopolysaccharide”, leader – Dr Dorota Tichaczek-Goska
6. project No. ST-318 realized in 2008 „Electrophoretic separation of outer membrane proteins (OMPs) of *Salmonella* ESBL(-) strains and their ESBL(+) transconjugants”, leader – Dr Jolanta Sarowska
7. project No. ST-473 realized in 2010-2012 „Microsporidiosis in immunosuppressed patients”, leader – Dr Maria Wesołowska
8. project No. ST-565 realized in 2011-2013 „The commercial aspects of the effect plant extracts containing anthocyanins on cell surface and virulence features of gram-negative and gram-positive bacteria”, leader – Prof. Dr hab. Andrzej B. Hendrich

#### 6.7. INTERNATIONAL AND NATIONAL AWARDS OBTAINED FOR SCIENTIFIC OR ARTISTIC ACHIEVEMENTS

- **2007** – Team Award of the Rector of Wrocław Medical University for education achievements (the chapter "The Trematodes" in textbook for English-speaking students „Parasitology for medical students” ed. Alicja Buczek, Lublin 2006, co-author of the script “Medical biology for students Faculty of Medicine and Faculty of Dentistry English Division” ed. A. Cisowska, Wrocław 2006)
- **2008** – Second grade Individual Award of the Rector of Wrocław Medical University for scientific achievements (for Ph.D. dissertation)
- **2011** – post-doctoral scholarship within the project "Programme for the development of Wrocław Medical University”
- **2014** – First grade Individual Award of the Rector of Wrocław Medical University for scientific achievements (for series of publications related to the effects of plant extracts on virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli* strains, published in 2012)

#### 6.8. TEACHING ACHIEVEMENTS AND POPULARIZATION ACTIVITIES

Running didactic classes (seminars, practicals, lectures) for students of the Medical University in Wrocław at the stationary studies at the Faculty: Medicine, Dentistry, Pharmacy with the Division of Laboratory Medicine, Health Sciences.

Running didactic classes (seminars, practicals) in English language for students of the English Division of the Faculty of Medicine and Dentistry.

6. Faculty of Medicine – 1st year – subject: Molecular Biology

7. Faculty of Dentistry – 1st year– subject: Molecular Biology, Genetics

8. Faculty of Pharmacy with the Division of Laboratory Medicine – 3rd year – subject: Parasitological Diagnostics

9. Faculty of Health Sciences – courses in Physiotherapy and Dietetics – 1st year

10. English Division – Faculty of Medicine, Faculty of Dentistry – 1st year, subject: Molecular Biology

#### Postgraduate courses

- **1999** – postgraduate course for graduates of the Faculty of Pharmacy entitled „Aseptic production of prescription drugs”, lecturer

- **2001-2004** – postgraduate course for physicians, dentists and pharmacists entitled „Reciprocal adaptations of parasites and hosts during the development of the parasite-host systems”, lecturer
- **2007-2010** – course of Clinical Parasitology for postgraduate students of Laboratory Medicine, lecturer
- **2007-2011** – course for physicians specializing in infectious diseases, internal diseases, paediatrics, family medicine entitled „Selected issues of clinical parasitology (biology, epidemiology, diagnostics, prevention and treatment)”, lecturer

#### Courses for English Division students

- **2003-2013** September – pre-courses of biology for foreign students (English-speaking) admitted to first year of studies. The subjects of the classes: „Mutagens. Types of point mutations and their consequences”, „Structural chromosomal aberrations”, „Numerical chromosomal aberrations”.

#### Chapters in monographs, textbooks and co-author of scripts:

1. Author of the chapter "*The Trematodes*" in textbook for English-speaking students „*Parasitology for medical students*" ed. Alicja Buczek, Lublin 2006
2. Co-author of script "*Medical biology for students Faculty of Medicine and Faculty of Dentistry English Division*" ed. A. Cisowska, Wrocław 2006

#### Science popularization activities:

1. Active participation in Projects within Lower Silesian Science Festival under the patronage of the Ministry of Science and Higher Education (2001-2014)
  - **IV DFN 2001** – „The parasites from the tropics and about why dirty hands are the cause of parasitic diseases" (20-22.09.2001)
  - **V DFN 2002** – „Travel around the World, and geohelminths" (19-22.09.2002)
  - **VII DFN 2004** – „Parasites around us", „The parasite as uninvited companion of our life" (17-24.09.2004)
  - **VIII DFN 2005** – „Do you need to wash your hands to be healthy?", „What parasites live around us?", „About the parasites from distant lands", „Genetic puzzles – quiz" (18-20.09.2005)

- **IX DFN 2006** „Do you need to wash your hands to be healthy?”, „Take a closer look parasites”, „What parasites live around us?”, „Meeting with parasites”, „About the parasites from distant lands”, „Meet the parasites from tropical countries”, „The parasite as uninvited companion of our life - quiz”, „Life Sciences Marathon” (18-21.09.2006)
  - **XI DFN 2008** – „Parasites in the child's environment”, „Take a closer look parasites”, „Life Sciences Marathon”, „About the parasites, which can be transmitted from animals”, „Parasitological quiz” (19-24.09.2008)
  - **XII DFN 2009** – „The secret life of human parasites”, „Tiny guests - great trouble. What to do with it?”, „The parasites - stowaways”, „Life Sciences Marathon”, „Parasitological quiz”, „The nature - natural workshops” (18-23.09.2009)
  - **XIII DFN 2010** – „The parasites - stowaways”, „Tiny guests - great trouble. What to do with it?”, „Life Sciences Marathon”, „Micro-companions of international travels”, „Parasitological quiz”, „The diversity of nature – natural workshops” (17-22.09.2010)
  - **XIV DFN 2011** – „The parasites - stowaways”, „Take a closer look parasites”, „Life Sciences Marathon”, „Tiny guests - great trouble”, „Parasites in the child's environment”, „The diversity of nature – natural workshops”, „The parasite as a companion of international travels”, „Parasitological quiz” (16-21.09.2011)
  - **XV DFN 2012** – „From paramecium to tarantula – life sciences marathon”, „Parasites - no trespassing!”, „Be careful of parasites!”, „World of parasites not only under the microscope – natural workshops”, „The parasite - a faithful companion of tropical travels”, „Unwanted guests” (21-26.09.2012)
  - **XVI DFN 2013** – „Uninvited guests in our body”, „Tiny guests - great trouble”, „Parasites in the child's environment”, „The parasite as a companion of international travels”, „Take a closer look parasites”, „From paramecium to tarantula – life sciences marathon”, „World of parasites not only under the microscope – natural workshops”, „Whipworm migrations – parasitological quiz” (20-25.09.2013)
  - **XVII DFN 2014** – „Already today, think about your health and how to avoid parasites”, „Think before you eat something - how to avoid parasitic infection”, „To understand the parasite”, „Parasites - organisms rational whether irrational?”, „Hunting for paramecium – life sciences marathon for bright people”, „Do you know what jumps, flies and slithers around you?” „Micro-companions of international travels”, „Whipworm migrations – parasitological quiz” (19-24.09.2014)
2. Running the lectures and workshops for high school students expanding their knowledge about the human parasitic diseases.

#### 6.9. SUPERVISION OF STUDENTS' PROJECTS

##### Promoter of master's theses

- **2008** – Małgorzata Dziergas „PAE (*Postantibiotic Effect*) and PASME (*Postantibiotic Sub-MIC Effect*) of amikacin and ciprofloxacin against *Escherichia coli* strains”
- **2009** – Krzysztof Krzysztoforski „Effect of subinhibitory concentrations of ciprofloxacin, amikacin and colistin on the ability to curli fibers synthesis and biofilm formation by uropathogenic *Escherichia coli* strains”
- **2010** – Anna Tessmann „Effect of glycoside forms of anthocyanidins on selected virulence features of uropathogenic *Escherichia coli* rods”
- **2013** – Paweł Chwedczuk „Impact of asiatic acid and ursolic acid on biofilm formation process by *Enterococcus faecalis* strains”
- **2014** – Emilia Dzik „Impact of plant extracts on the virulence and survival of *Enterococcus faecalis* strains”
- **2015** – Anna Bednarek „Effect of ciprofloxacin and plant extracts on the growth of uropathogenic *Escherichia coli* strains”

##### Scientific supervisor of master's theses

- **2005** – Aleksandra Zimna „Amikacin and ciprofloxacin interaction with normal umbilical cord serum in bactericidal process against *Escherichia coli* rods”
- **2007** – Anna Jaworska „Serum bactericidal activity against *Pseudomonas aeruginosa* rods isolated from bronchoalveolar lavage of patients with nosocomial pneumonia”
- **2008** – Agnieszka Pietraszko „Effect of subinhibitory concentrations of amikacin and ciprofloxacin on the presence of the capsular antigen K1 in *Escherichia coli* cells”
- **2011** – Zuzanna Sycz „Study of the effects of anthocyanins on selected virulence factors and cell membranes of uropathogenic *Escherichia coli* strains”
- **2013** – Małgorzata Kujawa „Influence of selected pentacyclic triterpenes on virulence factors of fecal streptococci isolated from the urine of patients with urinary tract infections”
- **2013** – Maria Obuchowicz „Effect of cranberry extract on selected virulence factors of *Enterococcus faecalis*”

##### Reviewer of master's theses

- **2008** – Anna Więzik „Hydrophobic properties of *Escherichia coli* strains with capsular antigen K1 and strains without this antigen”



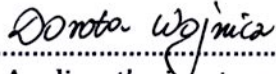
- **2009** – Marta Proń „Parasitic infections in children undergoing allogeneic stem cell transplantation and adult patients with secondary immunodeficiencies”
- **2009** – Magdalena Olichwer „Effect of lipopolysaccharide isolated from *Escherichia coli* 08IW728 on the bactericidal activity of normal human serum”
- **2010** – Aleksandra Szczebłowska „Comparison of efficacy of microscopic diagnostic methods used for detection of opportunistic protozoa”
- **2014** – Marta Ciapierzyńska „Effect of plant extracts on susceptibility of *Escherichia coli* rods on bactericidal action of normal human serum”

#### Promoter of bachelor theses

- **2007** – Maria Król „The role of bacterial biofilm in the pathogenesis of infection caused by *Pseudomonas aeruginosa* strains”
- **2008** – Anna Tessmann „Human intestinal parasites - the current state of knowledge”
- **2009** – Katarzyna Kowalska „Virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli* strains involved in biofilm formation”

#### 6.10. WORK FOR WROCLAW MEDICAL UNIVERSITY

- **2002** – Active participation in the accreditation process of Wrocław Medical University
- **2002** – Participation in the Recruitment Committee assessing the validity of reservations to the exam questions of candidates for the first year of study at Wrocław Medical University
- **from 2008 until the present time** – The function of secretary in the public defences of doctoral dissertations carried out at Faculty of Medicine of Wrocław Medical University (participation in 23 dissertation defences)

  
.....  
Applicant's signature