

REZUMATUL TEZEI DE ABILITARE

Abordări moleculare în lupta cu microorganismele rezistente și biofilmele microbiene

Conf. Univ. Dr. Alina-Maria Holban

I. REALIZĂRI PROFESIONALE, ȘTIINȚIFICE ȘI ACADEMICE

1. ACTIVITATE DIDACTICĂ/PROFESIONALĂ

Mi-am început activitatea de cercetare în cadrul proiectului de cercetare de licență, susținut în iunie 2008 și intitulat: *Tehnici de biologie moleculară pentru caracterizarea genetică a populațiilor de albine melifere din România.*

În perioada 2008-2010, am lucrat la Institutul de Genetică, Universitatea din București (UB), ca asistent de cercetare și am învățat să lucrez cu organisme model precum *Apis mellifera mellifera* și *Bombyx mori* pentru studii genetice și de variabilitate. Acolo am făcut parte din echipa de cercetare a doua proiecte naționale. În 2010, m-am înscris la doctorat la Școala Doctorală de Biologie, UB, în cadrul Departamentului de Microbiologie și Imunologie, unde am obținut o bursă de doctorat POSDRU, finanțată de UE pe o perioadă de 3 ani. Am beneficiat de un stagiu de pregătire internațional de opt luni, desfășurat în cadrul a două universități prestigioase din Marea Britanie: Institute for Cell and Molecular Biosciences, University of Newcastle, UK, și Center for Biomolecular Sciences, Nottingham University, UK. În timpul studiilor mele de doctorat, am adus contribuții semnificative la dezvoltarea domeniului complex al comunicării intercelulare între gazda umană și agenții patogeni bacterieni în timpul procesului infecțios, domeniu slab abordat în România.

În 2014-2015 am obținut o bursă Postdoc pentru 18 luni la Universitatea Politehnică București, unde am extins investigația în domeniul strategiilor antibacteriene alternative și am început studiul potențialului antimicrobian al nanoparticulelor (NPs). Aici, am construit și optimizat modele de cercetare pentru studiul nanoparticulelor anorganice care ar putea fi utilizate în terapia antiinfecțioasă, evaluând activitatea lor în modele de bacterii Gram-pozitive și Gram-negative.

În 2014 mi-am început cariera didactică la Universitatea din București, Facultatea de Biologie, mai întâi ca asistent universitar la Catedra de Botanică și Microbiologie (2014-2017), apoi ca Lector (2017-2020) și din februarie 2020 lucrez în calitate de conferențiar în aceeași catedra. Activitatea mea didactică implică cursuri de Microbiologie Aplicată; Strategii antimicrobiene fizice, chimice și biologice; Imunochimie-Serologie și lucrări practice de Microbiologie generală și Imunologie pentru studenții de licență și masterat. Sunt coautor al unui manual de Imunologie

(2021) publicat de Editura UB și al unei cărți intitulată *Novel Molecular Approaches to Target Microbial Virulence* (2015) publicată de Editura De Gruyter Open.

Mi-am dovedit capacitatea de a inspira studenți și tineri cercetători, supervizând anual peste 15 studenți la licență și masteranzi pentru tezele lor în domeniile microbiologie și imunologie. Majoritatea studenților care își susțin teza în acest domeniu sub îndrumarea mea directă și-au găsit cu succes un loc de muncă pe piața muncii din România, în spitale sau laboratoare medicale private, control microbiologic al produselor alimentare, industria cosmetică, farmaceutică și alimentară sau în institute de cercetare, dar și în străinătate. Cel puțin 10 doctoranzi și postdoctoranzi au fost incluși în echipa de cercetare a celor șapte proiecte pe care le-am coordonat în ultimii ani. După cum se observă din lista publicațiilor, numeroși studenți la master și doctorat sunt co-autori în lucrări indexate în baze de date internaționale sau prezentate în cadrul unor conferințe științifice.

Am îndrumat peste 20 de studenți ERASMUS, proveniți din diverse țări, precum Italia, Portugalia, Grecia și Turcia, care au efectuat diverse cercetări de microbiologie în laboratorul nostru de Microbiologie. Din 2022 sunt membru CIVIS - European Civic University (Health Hub) și susțin prelegeri pentru studenții internaționali implicați în fiecare an în ateliere tematice și programe de studii comune.

Pentru performanța academică dovedită, candidatei i s-a acordat gradație de merit profesoral, din 2021.

2. ACTIVITATEA DE CERCETARE

După obținerea diplomei de Doctor, am început să aplic pentru finanțare la diferite competiții naționale. Din 2014 am obținut șapte granturi de cercetare în calitate de Director sau Responsabil Partener UB, toate abordând noi domenii pentru cercetarea românească: 372 TE/2015 (https://alina.amgtranscend.org/?page_id=44): *Nanoparticule de magnetită funcționalizate cu compuși naturali pentru modularea virulenței și persistenței Pseudomonas aeruginosa*; 52 PTE/2016 (<http://nanocolagel.sanimed.ro/>): *Hidrogeluri compozite pe bază de nanoparticule anorganice și colagen cu activitate antimicrobiană prelungită pentru prevenirea infecțiilor cutanate*; 61 PD/2018 (https://alina.amgtranscend.org/?page_id=74): *Nanoparticule core-shell*

funcționalizate cu diferite molecule antimicrobiene; 271 PED/2020 (https://alina.amgtranscend.org/?page_id=87): *Tratament cu plasmă rece pentru îmbunătățirea retenției de fluor și modularea biofilmului bacterian, cu aplicații în medicina dentară*; 147 TE/2020 (https://alina.amgtranscend.org/?page_id=89): *Interacțiuni in vitro ale nanoparticulelor cu microbiota umană și tulpinile probiotice*; 555 PED/2020 (<http://lspi.inflpr.ro/2020/PED555/IMEDTEX>): *Strategii noi de îmbunătățire a performanțelor textilelor medicale*; 505 PED/2020 (<https://nanopeg.inflpr.ro/index.php?id=research-team>): *Suprafețe nanomodificate pentru tuburi G rezistente la colonizarea microbială*. De asemenea, sunt membru în comitetul de coordonare a două acțiuni COST: 2016 – 2021, CA16124 - *Brillouin Light Scattering Microspectroscopy for Biological and Biomedical Research and Applications* (BioBrillouin, <https://www.cost.eu/actions/CA16124/>); 2021 – 2025, și CA20114 - *Aplicații terapeutice ale plasmelor reci* (PlasTHER, <https://www.cost.eu/actions/CA20114/>). Proiectele naționale și internaționale dezvoltate au permis candidatului să dezvolte modele originale de cercetare în domeniul: cercetării biofilmelor (biofilme mono și multispecifice statice și microfluidice); cercetarea celulelor bacteriene (tehnici de microscopie de super-rezoluție pentru evaluarea modificării celulelor bacteriene); materiale nanostructurate cu proprietăți antibacteriene (modele de cultura planctonică și în biofilm); tratament cu plasmă pentru a inhiba atașarea bacteriilor și formarea de biofilm pe diferite substraturi; soluții chimice și fizice pentru îndepărtarea/inactivarea biofilmelor mature. Unele dintre modelele și protocoalele dezvoltate au fost deja patentate sau au primit medalii după ce au fost prezentate saloanelor de invenții.

Am participat ca membru în echipa de cercetare în alte 15 proiecte, dintre care 2 au fost internaționale. Sunt coeditor la 47 de cărți internaționale (publicate de ELSEVIER), autor al unei monografii internaționale, coautor a două manuale naționale și coautor a peste 25 de capitole de carte. Am deținut 3 brevete, am publicat peste 250 de lucrări vizibile în Scopus (acumulând 4322 de citări, fără auto-citari) și am participat cu peste 100 de comunicări orale /postere la diferite evenimente științifice. Sunt membru în Comitetul Editorial a două reviste românești și Editor Asociat la 4 reviste internaționale.

Am primit două premii internaționale (2013 Best Green Inventors, Taipei, Taiwan și 2017 EMRS, Strasbourg, Franța), trei granturi/invitații de participare plătite (FEBS 14th YSF 2014, Paris, Franța; 42th FEBS/EMBO Congress 2017, Ierusalim, Israel; Școala II de pregătire PlasTher, 2023,

Bari, Italia), 4 medalii de aur și una de argint în saloanele de invenție din România și din străinătate. În decembrie 2022 am fost distins cu premiul Top 10% cei mai buni cercetători ai Universității din București, în cadrul unei ceremonii organizate de Rectoratul UB.

Sunt membru a 2 societăți științifice naționale (Societatea Română de Microbiologie; Societatea Română de Biochimie și Biologie Moleculară) și 2 internaționale (Societatea Europeană de Microbiologie Clinică și Boli Infecțioase; Federația Societăților Europene de Biochimie) și acționez ca revizor de proiecte de cercetare pentru scheme de finanțare naționale (UEFISCDI, granturi de cercetare Universitatea din București și granturi CIPCS ale Universității din Pitești) și internaționale (Centrul Național de Știință, Polonia).

3. Contribuții la dezvoltarea direcțiilor de cercetare științifică

3.1. Virulența microbiană și interacțiunile gazdă-patogen în epidemiologia bolilor infecțioase

3.1.1. Caracterizarea virulenței microbiene

Candidata a folosit și optimizat metode fenotipice și moleculare pentru a investiga producerea de factori de virulență la agenți patogeni oportuniști model, izolați din diferite infecții. Am investigat factorii de virulență a peste 300 de bacterii izolate din clinica, Gram pozitive (în principal tulpini de *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus faecalis* și *E. faecium*) Gram negative (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Acinetobacter baumani*, *Salmonella sp.*), dar și levuri (*Candida sp.*). Am reușit să corelăm unele caracteristici de virulență și rezistență cu parametrii clinici ai infecțiilor cauzate de agenții patogeni respectivi. Am investigat și optimizat, de asemenea, tehnici de microscopie de super rezoluție (ex. s-SNOM) pentru a analiza celulele bacteriene în diferite condiții.

3.1.2. Mecanismul de *Quorum Sensing* și comunicarea gazdă-patogen

Candidata a realizat studii semnificative în domeniul semnalizării *Quorum Sensing* (QS) și al comunicării inter-regn, prin dezvoltarea unor modele originale *in vitro* bazate pe *P. aeruginosa* și celule stem mezenchimale. Semnalizarea QS reprezintă sistemul central de reglare moleculară la bacterii, iar manipularea acestuia ar putea fi cheia în controlul microorganismelor patogene. Faptul

că practic toate fenotipurile bacteriilor pot fi controlate de amestecul molecular potrivit aduce noi perspective nu numai în controlul infecțiilor, ci și în diferite industrii și tehnologii care urmăresc să profite de unele trăsături benefice ale microorganismelor. Am investigat mecanismele moleculare și celulare complexe implicate în semnalizarea gazdă-patogen, concentrându-ne pe: i) recunoașterea bacteriană a hormonilor de stres ai gazdei (ex. adrenalină, noradrenalina) și alte molecule de semnalizare și ii) răspunsul gazdei la moleculele QS bacteriene. Prin exploatarea semnalizării moleculare între bacterii și, de asemenea, între bacterii și gazda lor, am putea înțelege mai bine factorii cheie responsabili pentru capacitatea lor de a produce infecții severe. De asemenea, aceste cunoștințe ar avea un impact asupra dezvoltării unor strategii antimicrobiene alternative bazate pe molecule mici care ar putea interfera cu mecanismele cheie ale virulenței.

3.2. Strategii antimicrobiene alternative

Dezvoltarea de strategii în care nu este necesară uciderea celulelor bacteriene ar putea ajuta în lupta împotriva agenților patogeni rezistenți prin reducerea ratei de selecție a mutantelor rezistente. În prezent, există numeroase abordări luate în considerare de cercetători pentru proiectarea de metode antimicrobiene eficiente. Astfel de abordări includ: (i) factori biologici, cum ar fi bacteriofagii sau probioticele; (ii) factori chimici, cum ar fi moleculele naturale sau sintetice (antibiotice noi, medicamente cu rol reatribuit, compuși derivați din plante, peptide antimicrobiene, modulatorii de virulență/QS etc.), nano și microparticule, etc.; (iii) factori fizici, cum ar fi terapiile fotodinamice și fototermale, sau plasmă atmosferice reci.

Prin studiile realizate, candidate a contribuit la dezvoltarea de strategii antimicrobiene bazate pe factori chimici (ex. compuși derivați din plante și miere, uleiuri volatile, nanoparticule) și fizici (ex. plasmă atmosferice reci), utile în lupta împotriva agenților patogeni rezistenți și a biofilmelor.

3.2.1. Compuși derivați din plante

Datorită eficienței dovedite și a riscului redus de a selecta mutante rezistente, am testat diverse uleiuri volatile (UV), plante și chiar extracte din miere, majoritatea obținute din probe recoltate pe teritoriul României. Am dezvoltat și aplicat metode eficiente pentru a investiga efectul lor

antibacterian. De exemplu, am comparat metodele bazate pe cultură versus citometria în flux pentru a analiza activitatea antifungică a uleiului de *Eugenia caryophyllata*. Într-un alt studiu am raportat efectul unor UV și al unora dintre fracțiile lor majore asupra producerii de factori de virulență solubili și a profilurilor de expresie a genelor de QS a unor tulpini clinice de *S. aureus* și *P. aeruginosa*. Au fost testați UV de *Salvia officinalis*, *Rosmarinus officinalis*, *Abies alba* și *Eugenia caryophyllata*, precum și unii dintre compușii lor majori (limonen, eugenol și eucaliptol). UV și componentele lor majore s-au dovedit a inhiba expresia fenotipică a determinantilor de virulență solubili (hemolizine, gelatinază, DN-aza, lipază, amilază, hidroliza esculinei) atunci când sunt utilizate în concentrații sub-inhibitorii.

3.2.2. Compuși de origine aplicolă

Candidata a efectuat teste de analiza a eficienței antimicrobiene a unor produse aplicole, cum ar fi mierea, propolisul și substanțe derivate din aceste produse, studii care au făcut obiectul mai multor lucrări de licență și master. Polifenolii de origine aplicolă s-au dovedit a fi foarte utili în medicina dentară, fiind investigați în anumite modele *in vivo* pentru modularea dezvoltării biofilmului plăcii dentare, tratamentul parodontitei și, de asemenea, în managementul cancerelor bucale.

3.2.3. Nanomateriale

Candidata a adus o contribuție semnificativă în domeniul dezvoltării nanomaterialelor antimicrobiene, prin optimizarea modelelor de investigare și evaluarea diferitelor tipuri de materiale care pot fi luate în considerare pentru aplicații biomedicale. Unele dintre nanosistemele dezvoltate au dovedit o eficiență dublă, fiind utile în lupta împotriva agenților patogeni oportuniști testați și împotriva unor celule tumorale, evaluate prin studii *in vitro* și *in vivo*. Contribuția ei la această direcție de cercetare este susținută de peste 100 de lucrări publicate de candidată și echipa sa de cercetare în reviste recunoscute internațional, grupate în quartilele științifice Q1 (zona roșie) sau Q2 (zona galbenă).

3.2.3.1. Nanoparticule pentru livrarea medicamentelor

Una dintre principalele abordări a fost dezvoltarea și investigarea sistemelor nanostructurate capabile să stabilizeze și să controleze livrarea sau eliberarea de substanțe bioactive. Pe această temă, am testat mai multe tipuri de nanoparticule (NP), precum magnetită (Fe_3O_4), argint (Ag), oxid de zinc (ZnO), CuO, silice (SiO_2), nanotuburi de carbon (CNT), dar și NP polimerice, precum chitosanul (CS), capabile să îmbunătățească proprietățile antimicrobiene ale antibioticelor, medicamentelor antitumorale și ale moleculelor derivate din produse naturale.

Am evaluat interacțiunile *in vitro* ale unor astfel de NP cu celule bacteriene și eucariote. Candidata a stabilit impactul acestora asupra membranelor celulare, asupra permeabilității membranei și potențialului electric, dar și efectul lor asupra morfologiei, arhitecturii și proliferării celulelor eucariote *in vitro*. Multe dintre NP dezvoltate (în special Fe_3O_4) au fost utile pentru a livra medicamente citostatice și pentru a limita proliferarea celulelor canceroase *in vitro*.

Candidata a investigat, de asemenea, cum ar putea fi îmbunătățită biocompatibilitatea unor astfel de nanosisteme de livrare a antibioticelor. Am folosit acoperiri polimerice pentru NP preparate anterior, prin producerea de nanostructuri polimerice de tip *core-shell*. Într-un studiu recent am investigat capacitatea NP de Fe_3O_4 funcționalizate cu eugenol de a modula virulența și persistența izolatelor clinice de *P. aeruginosa*. Această cercetare a fost concepută și coordonată de către candidată ca subiect al unuia dintre proiectele de cercetare (372 TE), în studiu fiind implicați doi dintre doctoranzii departamentului nostru. Nanosistemele obținute au fost foarte eficiente în stabilizarea și eliberarea controlată a unor astfel de agenți naturali antimicrobieni, diminuând concentrațiile minime inhibitoare ale acestora în tulpini de laborator și clinice, unele dintre ele fiind rezistente la antibiotice. Am raportat capacitatea NP de magnetită funcționalizată de a modula virulența și rezistența fenotipică a *P. aeruginosa*; ca atare, studiile noastre evidențiază potențialul acestor nanostructuri bioactive de a fi utilizate ca agenți anti-patogeni eficienți atunci când sunt utilizate în concentrații subinhibitorii. Mai mult, am demonstrat că NP funcționalizate cu eugenol au impact asupra ratei de selecție a celulelor persistente induse de expunerea la Ciprofloxacina în tulpinile clinice de *P. aeruginosa*. De asemenea, am corelat inhibarea selectării de celule persistente de către NP cu profilul de rezistență/susceptibilitate la antibiotice al tulpinilor microbiene testate.

3.2.3.2. Materiale și acoperiri nanostructurate pentru dispozitive medicale

În laboratorul nostru, am studiat câteva materiale noi tridimensionale (3D) care au prezentat efecte biologice mixte, fiind utile în ingineria țesuturilor și nu numai. Am obținut o matrice 3D pe bază de colagen (COLL), hidroxiapatită (HAp), β -ciclodextrină (β -CD) și acid usnic (UA). Matricea 3D preparată s-a dovedit a fi biocompatibilă, permițând dezvoltarea și creșterea normală a celulelor de tip osteoblaste MG-63, prezentând în același timp efect antimicrobian.

Împreună cu colegii din UPB și din străinătate, candidata a participat la proiectarea diferitelor materiale nanofibroase cu proprietăți antimicrobiene. Unul dintre cele mai relevante studii pe acest domeniu a fost realizat în colaborare cu Dr. Liakos de la *Istituto Italiano di Tecnologia* din Genova. Am folosit metoda electrospinning pentru a crea nanofibre din acetat de celuloză, rozmarin și oregano.

În continuare, candidata a extins colaborarea cu cercetătorii de la Institutul Național pentru Fizica Laserilor, Plasmei și Radiațiilor (INFLPR), care au fost interesați să investigheze fizica materialelor și aplicarea unor tehnici fizice de acoperire a suprafeței diferitelor materiale. În această colaborare continuă, ne propunem să dezvoltăm și să caracterizăm filme polimerice subțiri și acoperiri pentru diferite suprafețe și dispozitive medicale. Împreună cu partenerii noștri, am optimizat tehnica de depunere prin evaporare pulsată cu laser asistată de matrice (MAPLE) pentru a produce filme subțiri, uniforme și netede de polimeri, inclusiv biomateriale sensibile, capabile să moduleze atașarea bacteriilor și formarea biofilmului.

Am investigat diferite învelișuri polimerice obținute prin prelucrarea MAPLE, cum ar fi silice mezoporoasă (SiO_2), nanomateriale mezoporoase (MSN), acid polilactic, acid poli (lactic-co-glicolic), etc. și capacitatea lor de a elibera molecule bioactive. Acoperirile compozite obținute au prezentat o activitate antibacteriană semnificativă împotriva tulpinilor de *E. coli*, *Bacillus subtilis*, *E. faecalis* și *S. aureus*.

NP de magnetită, optimizate anterior de grupul nostru de cercetare, au fost utilizate în continuare în proiectarea acoperirilor anti-biofilm. NP anorganice au fost funcționalizate cu UV pentru a le crește acoperirea antimicrobiană într-o abordare ecologică, pentru proiectarea de materiale și acoperiri bioactive utile în industria dispozitivelor medicale. UV de *Nigella sativa*, *Eucalyptus*

globulus, *Anthriscus sylvestris*, au fost stabilizate cu succes în acoperiri polimerice, prin încapsularea lor în NP optimizate.

3.2.3.3. Nanomateriale în managementul leziunilor cutanate

În acest domeniu de cercetare, candidata a participat la studii care vizează proiectarea de acoperiri nanostructurate pentru a obține hidrogeluri, nanofibre, structuri poroase, acoperiri și filme cu proprietăți biologice îmbunătățite, utile pentru o mai bună vindecare a rănilor.

Două dintre granturile de cercetare coordonate (52 PTE/2016; și 555 PED/2020) s-au concentrat pe materiale bioactive nanostructurate capabile să limiteze colonizarea bacteriană și formarea de biofilm a agenților patogeni de la nivelul leziunilor cutanate. Pe parcursul derulării acestor proiecte s-au consolidat colaborări importante cu universități (i.e. Universitatea Politehnica din București), institute de cercetare (i.e. Institutul de Virologie Stefan S Nicolau, Institutul INFLPR Măgurele) și parteneri industriali (i.e. Sanimed International Impex SRL). În plus, peste 30 de lucrări publicate de candidată vizează dezvoltarea și evaluarea unor pansamente și acoperiri antimicrobiene.

Pentru a fructifica expertiza în NP magnetice, le-am folosit în proiectarea pansamentelor bioactive, pentru îmbunătățirea proprietăților lor biologice. Ne-am concentrat cercetările asupra compușilor derivați din plante, cum ar fi eugenolul, acidul usnic (UA) și diverse UV pentru a crește proprietățile antibacteriene ale unor astfel de pansamente nano-modificate.

De asemenea, am folosit tehnica de electrofilare pentru a obține plase nanofibroase pe bază de alcool polivinilic (PVA), chitosan (CS) și acid usnic (UA) pentru aplicații în vindecarea rănilor.

Am acoperit pansamente textile cu magnetită NP funcționalizată cu UV. Aceste pansamente au dovedit o abilitate ridicată de a reduce colonizarea microbiană a rănilor și de a îmbunătăți vindecarea rănilor. Aceste proprietăți au fost evaluate atât *in vitro* în culturi de celule, dar și *in vivo*, pe model murin.

O altă direcție abordată de grupul nostru a fost obținerea de pansamente pe bază de polimeri și NP care să fie considerate în dezvoltarea de pansamente de generație viitoare. Deoarece polimerii nanostructurați sunt materiale ideale pentru livrarea medicamentelor, am proiectat și testat un

compozit bazat pe biopolimeri natural (chitină și alginat de sodiu) încărcat cu antibiotice comerciale, încapsulate în NP anorganice (precum Ag sau ZnO).

3.2.3.4. Nanomateriale pentru industria alimentară

Potențialul antimicrobian al nanomaterialelor a fost exploatat de către candidata în ultimii zece ani și pentru dezvoltarea de soluții nanostructurate pentru prevenirea contaminării alimentelor și extinderea termenului de valabilitate a principalelor alimente. Ne-am propus să obținem un nou ambalaj antibacterian, pe bază de alginat ca polimer biodegradabil.

Activitatea antibacteriană a materialului polimeric dezvoltat de echipa noastră de cercetare a fost îmbunătățită prin adăugarea de diferite cantități de NP de ZnO încărcate cu UV de *Citronella sp.* (CEO). Rezultatele noastre au sugerat interacțiuni sinergice cu privire la activitățile antibacteriene ale ZnO și CEO împotriva tulpinilor bacteriene Gram-negative (*E. coli* și *Salmonella Typhi*) și Gram-pozitive (*Bacillus cereus* și *S. aureus*), cunoscute ca agenți patogeni alimentari.

În pasul următor am testat ambalajele pe bază de alginat pentru capacitatea lor de a proteja diferite tipuri de brânză. Am folosit variante de brânză moale, care de obicei are un termen de valabilitate de aproximativ 4 zile la 4-8°C. Materialul polimeric alginat a fost modificat cu NP de Ag și CEO pentru a crește proprietățile sale antibacteriene și a prelungi durata de valabilitate a produselor. Proprietățile de barieră ale foliilor de alginat sunt foarte importante, deoarece trebuie să prevină pierderea aromei, a apei sau a altor substanțe volatile din alimentele ambalate. Testele noastre indică faptul că filmele antimicrobiene obținute pot fi folosite ca ambalaj, păstrând culoarea, textura suprafeței și moliciunea brânzei timp de 14 zile.

3.2.3.5. Interacțiunea nanoparticulelor cu microbiota și tulpinile probiotice

Microbiota este susceptibilă practic la orice factori exogeni și endogeni, iar schimbarea compoziției sale are un impact esențial asupra stării de sănătate a gazdei. Dieta, dar și moleculele și particulele care ar putea fi ingerate în diverse situații, reprezintă cei mai importanți agenți de modelare a microbiotei tractului gastrointestinal (GIT). Printre acestea, UV și extractele de plante ajung frecvent în contact microbiota după ingerarea fructelor și legumelor care le conțin. Mai mult,

diverse micro și nanoparticule întâlnite pe scară largă în mediul înconjurător, praful, aerul, apa dar și medicamentele și unele produse de îngrijire personală (apă de gură, pastă de dinți, creme de protecție solară etc.) ar putea ajunge în contact cu microbiota intestinală, cu consecințe semnificative. Într-un studiu recent, am evaluat principalele interacțiuni din triada microbiotă-NP-UV, subliniind rolul UV și NP în modelarea microbiotei și modularea metabolismului intestinal, ceea ce ar putea avea impact asupra nutriției și asupra echilibrului sănătate/boală.

Compușii bioactivi ai UV ar putea duce la modificarea mediului intestinal sub acțiunea enzimelor microbiene sau după modificarea lor de către compușii excretați de gazdă. Astfel de modificări ar putea avea un impact asupra compoziției și diversității microbiotei, dar ar putea exercita și modificări mai subtile, cum ar fi alterarea capacității microbiotei de a sintetiza anumiți metaboliți importanți pentru gazdă (adică vitaminele). Aceste interferențe pot avea un impact inevitabil asupra sănătății gazdei.

Pe de altă parte, când vine vorba de NP anorganice, se pare că impactul acestora asupra speciilor microbiene izolate din microbiotă este strict dependent de concentrația, dimensiunea și bioactivitatea acestora. Deși unele studii indică faptul că NP nu au nicio influență semnificativă asupra microbiotei intestinale sau nu provoacă leziuni histologice, testele au fost efectuate mai ales cu doze mici. Cu toate acestea, cele mai multe dintre rapoartele cu doze mai mari și expunere pe termen lung, cum ar fi expunerea profesională, arată că efectele biologice negative pot fi prezente atunci când NP anorganice intră în contact cu microbiota intestinală. Modificările includ inflamația, reducerea diversității și dezechilibrul filumurilor microorganismelor din microbiotă. Aceste efecte sunt de obicei asociate cu producerea de radicali liberi anorganici care provoacă leziuni oxidative, dar și contactul direct al NP cu celulele microbiotei, provocând deteriorarea membranei sau liza celulară produsă de aglomerarea NP în anumite regiuni.

Studiul nostru și-a propus creșterea gradului de conștientizare cu privire la impactul potențial al NP și UV asupra microbiotei intestinale, deoarece atât NP, cât și moleculele derivate din plante sunt alternative investigate pe scară largă pentru a lupta împotriva bacteriilor rezistente la antibiotice.

3.2.3.6. Nanoparticule pentru conservarea obiectelor de patrimoniu și a clădirilor

Deoarece am obținut efecte antimicrobiene eficiente cu NP anorganice în studiile noastre anterioare, acestea au fost utilizate și pentru a reduce încărcătura microbiană biodeteriogenă de pe documente vechi, cărți și ale obiecte de patrimoniu.

Rezultatele obținute au arătat că nanopulberile de ZnO sunt agenți antimicrobieni adecvați pentru a fi aplicați prin pulverizare pe produsele pe bază de celuloză, conferind un efect antibacterian și antimicrofungic extins. Metoda propusă nu are un impact negativ asupra calității documentelor din celuloză și ar putea fi utilizată eficient pentru protecția împotriva biodegradării. Tratamentul cu NP de ZnO a eșantioanelor din documente ce datează din sec. XVIII-XIX, ce prezentau colonizare microbiană și biodegradare vizibilă, îndepărtează complet speciile colonizatoare (atât miceliile, cât și sporii microfungilor filamentoși, microorganisme frecvent întâlnite pe aceste obiecte).

În plus, am obținut NP anorganice pentru protecția unor obiecte de artă din piatră și clădiri vechi. De asemenea, am proiectat cimenturi bioactive, cu proprietăți antibacteriene, pentru a fi utilizate ca materiale de construcție bioactive pentru pardoseli sau zidărie în vederea îmbunătățirii stării de igienă a clădirilor, îmbunătățind astfel condițiile de locuit și prelungind durata de viață a construcției.

3.2.4. Strategii antimicrobiene bazate pe factori fizici

Într-un proiect recent coordonat de candidată (271 PED/2020), scopul a fost obținerea unei metode pe bază de plasmă rece cu efect dual exprimat prin modularea biofilmului microbial și întărirea smalțului prin fluorurare, cu aplicații în medicina dentară. În acest studiu, echipa de cercetare a elaborat un model asemănător smalțului compus din hidroxiapatită (HAP) cu structură cristalină specifică pentru a imita smalțul mamiferelor, care a fost apoi testat pentru capacitatea de reținere a fluorului după aplicarea unei plasmă reci în prezență și în absența unui produs care conține fluor. În plus, modelul a fost folosit pentru a studia capacitatea bacteriilor de a adera și dezvolta biofilme monospecifice pe suprafețele HAP activate cu plasmă în prezența sau absența unui gel cu fluor. Studiul nostru a abordat principalii factori responsabili de dezvoltarea cariilor (modularea rezistenței smalțului prin îmbunătățirea retenției de fluor și dezvoltării biofilmului plăcii dentare). Ulterior, am dezvoltat și patentat un model de tratament cu plasma rece pentru

distrugerea/inactivarea biofilmelor mature, preformate. Metoda dezvoltată a fost eficientă în îndepărtarea biofilmelor mature dezvoltate pe HAP, sticlă și chiar suprafețe de smalț natural.

II. PERSPECTIVE DE CARIERĂ

Pentru o carieră academică de succes, candidata se va concentra în continuare pe dezvoltarea și dobândirea de abilități atât pentru activitățile educaționale de predare, dar și pe cercetarea științifică, pentru a obține rezultate și cunoștințe competitive, reflectate de vizibilitate sporită și recunoaștere internațională.

1. ACTIVITATE DIDACTICĂ/PROFESIONALĂ

Candidata își propune să intensifice eforturile de eficientizare a procesului didactic printr-o abordare interactivă a cursurilor și lucrărilor practice, prin cooptarea și mobilizarea studenților de licență, master și doctorat pentru a participa direct la procesul didactic și prin dezvoltarea de noi materiale care să servească drept suport pentru cursuri, respectiv pentru lucrări de laborator.

Am în vedere publicarea unei cărți universitare intitulată „*Alternative antimicrobiene bazate pe factori fizici, chimici și biologici*” care să sprijine studenții de licență, masterat și doctorat de la secțiile de Biologie și Biochimie.

Un alt scop este de a dezvolta teme de cercetare atractive în domeniile microbiologiei și imunologiei, pentru a sprijini studenții în obținerea de abilități utile de laborator în timpul proiectelor de licență, masterat și doctorat. Voi fi în contact permanent cu posibili angajatori pentru studenții pe care îi pregătesc, pentru a fi la curent cu necesitățile pieței de muncă, în vederea pregătirii trainice a viitorilor specialiști, care vor fi încadrați în laboratoare medicale, industrie, sau institute de cercetare din România și în străinătate.

2. DIRECȚII DE CERCETARE

Activitatea de cercetare a fost și va rămâne o parte dominantă a carierei mele academice. Scopul principal este de a crește competitivitatea și calitatea studiilor pentru a obține o pregătire la nivel înalt a studenților și tinerilor cercetători în domeniul Biologiei.

Pentru a atinge acest obiectiv, voi participa constant la competiții de proiecte de cercetare atât la nivel național, cât și internațional. Îmi propun să includ în echipa proiectelor mai mulți studenți și tineri cercetători (masteranzi, doctoranzi și postdoctoranzi). De asemenea, urmăresc dezvoltarea relațiilor de colaborare inter și transdisciplinare, atât la nivelul Universității din București, cât și cu alte instituții de cercetare din țară și străinătate (universități, institute de cercetare, industrie etc.), precum și abordarea noi teme de cercetare de interes internațional, cu potențial sporit de dezvoltare a cunoștințelor în domeniu (ex. dezvoltarea de alternative la tratamentul cu antibiotice).

O altă preocupare permanentă este diseminarea rezultatelor obținute, prin publicarea de articole în reviste științifice solide și prin comunicarea acestora în cadrul conferințelor naționale și internaționale pentru creșterea gradului de conștientizare și impact al cercetărilor noastre.

Principalele direcții de cercetare pe care doresc să le consolidez în cadrul Școlii Doctorale de Biologie a Universității din București vor fi orientate către:

1. Investigarea interacțiunilor gazdă-patogen și consecințele acestora asupra progresiei procesului infecțios.
2. Exploatarea materialelor nanostructurate pentru controlul virulenței și dezvoltării microorganismelor, ca unealtă eficientă în lupta împotriva agenților patogeni rezistenți.
3. Aplicarea metodelor fizice, cum ar fi plasmă atmosferică rece, pentru controlul biofilmelor microbiene și a infecțiilor persistente.

Prin îndeplinirea acestor obiective ale carierei academice, candidata va contribui la dezvoltarea resurselor umane de specialitate (reprezentate în principal de studenți și tineri cercetători) de la Facultatea de Biologie, UB, pe de o parte, și, pe de altă parte, va contribui la creșterea vizibilității instituției la nivel internațional prin comunicarea eficientă a rezultatelor studiilor de mare impact care ar atrage citări și colaborări ulterioare.