

19.09.2023

Recenzja pracy magister Olgi Marianny Zajęc

pt.: „Badanie obecności pomp MDR oraz ich udziału w oporności szczepów klinicznych *Stenotrophomonas maltophilia* na związki przeciwbakteryjne” na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne

Przedmiotem pracy doktorskiej magister Olgi Zajęc jest bardzo istotny problem oporności pałeczek niefermentujących z gatunku *Stenotrophomonas maltophilia* na leki. *S. maltophilia* jest ważnym czynnikiem etiologicznym zakażeń u pacjentów z upośledzeniem odporności (przede wszystkim w oddziałach intensywnej terapii, gdzie wywołuje ciężkie, niejednokrotnie śmiertelne zakażenia szpitalne) oraz u chorych na mukowiscydozę. Wykazuje naturalną oporność na wiele grup leków przeciwbakteryjnych, co znacznie ogranicza dostępne opcje terapeutyczne, a leczenie dodatkowo utrudnia narastająca w ostatnich latach oporność na nieliczne aktywne wobec tego drobnoustroju środki, tj. trimetoprim-sulfametoksazol (TMP-SMX) i lewofloksacynę. Doktorantka podjęła próbę dogłębnego wyjaśnienia roli pomp błonowych MDR w lekooporności *S. maltophilia*, a także dokonała analizy pokrewieństwa genetycznego dużej grupy izolatów klinicznych, co ma znaczenie dla określenia źródła i dróg transmisji tego drobnoustroju w środowisku szpitalnym.

Rozprawa doktorska stanowi spójny tematycznie cykl 3 publikacji i składa się z następujących części: informacji o źródłach finansowania badań, wykazu dorobku naukowego (publikacji i sekwencji zdeponowanych w bazie PubMLST), wykazu pozostałych publikacji i informacji o udziale w konferencjach, spisu treści, wykazu skrótów, streszczenia w języku polskim i angielskim, wstępu, założeń i celów, dyskusji, kopii publikacji wchodzących w skład cyklu, podsumowania, wniosków, piśmiennictwa, opinii komisji bioetycznej, oświadczeń współautorów określających ich procentowy wkład w przygotowanie publikacji oraz zawierających zgody na wykorzystanie artykułów w pracy doktorskiej mgr Zajęc.

We wstępie Doktorantka przedstawiła charakterystykę drobnoustroju, jego chorobotwórczość, leki stosowane w terapii zakażeń wywoływanych przez *S. maltophilia* oraz mechanizmy oporności tej pałeczki na różne grupy antybiotyków, ze szczególnym uwzględnieniem pomp błonowych, a także omówiła zróżnicowanie genetyczne szczepów tego gatunku. Wstęp jest wyczerpujący, zawiera aktualne informacje i porusza wszystkie zagadnienia będące przedmiotem badań Kandydatki. Pewną nieścisłością jest jedynie użycie terminu „posocznica” (ang. septicaemia),

które zgodnie z aktualnymi definicjami Society of Critical Care Medicine i European Society of Intensive Care Medicine (SCCM/ESICM) powinno zostać zastąpione słowem „sepsa” (ang. sepsis).

Głównym celem pracy Kandydatki było zbadanie udziału pomp błonowych MDR w oporności klinicznych izolatów *S. maltophilia* na środki przeciwbakteryjne. Cel ten został precyzyjnie dookreślony w 8 celach szczegółowych. Wszystkie one zostały zrealizowane w pracach wchodzących w skład rozprawy doktorskiej.

Na cykl publikacji składają się: 1 praca poglądowa pt. „Biofilm, pompy MDR i inne mechanizmy oporności *Stenotrophomonas maltophilia* na związki przeciwbakteryjne” opublikowana w Postęпах Mikrobiologii (IF 0,286) oraz 2 prace oryginalne: „Phenotypic and Molecular Characteristics of the MDR Efflux Pump Gene-Carrying *Stenotrophomonas maltophilia* Strains Isolated in Warsaw, Poland” i „The Contribution of Efflux Systems to Levofloxacin Resistance in *Stenotrophomonas maltophilia* Clinical Strains Isolated in Warsaw, Poland”, obie wydane w Biology (IF 5,168). We wszystkich pracach Doktorantka jest pierwszym autorem, a jej udział w ich przygotowaniu wyniósł odpowiednio 85%, 65% i 65%, co zostało potwierdzone oświadczeniami współautorów.

Mgr Zając poddała analizie 94 szczepy *S. maltophilia* wyizolowane w okresie 2010-2013 z różnych materiałów klinicznych pacjentów wieloprofilowego szpitala warszawskiego oraz pacjentów pozaszpitalnych. Badania lekowrażliwości wykazały, że wszystkie szczepy były wrażliwe na TMP-SMX i minocyklinę, natomiast 7% izolatów było opornych na lewofloksacynę, a 39% należało do kategorii „wrażliwy przy zwiększonej ekspozycji”. Ta ostatnia informacja jest bardzo niepokojąca, ponieważ lewofloksacyna jest głównym lekiem alternatywnym do TMP-SMX w leczeniu zakażeń *S. maltophilia* (minocyklina nie jest dostępna w Polsce), a brak jej aktywności istotnie ogranicza możliwości skutecznej terapii. Badając mechanizmy oporności na leki Doktorantka stwierdziła, że niemal wszystkie oceniane szczepy posiadały geny kodujące 10 systemów i pomp MDR z rodzin RND i ABC odpowiedzialnych za oporność wielolekową, co świadczy o powszechnym występowaniu w/w mechanizmów aktywnego usuwania leków u *S. maltophilia*. U kilkunastu izolatów dodanie inhibitorów pomp błonowych spowodowało istotny spadek wartości MIC lewofloksacyny, co wskazuje na udział pomp błonowych w oporności na ten lek. Dla jednego szczepu opornego na lewofloksacynę Doktorantka zidentyfikowała mechanizm molekularny leżący u podłoża tego zjawiska, tj. mutację w genie regulatorowym *smeRv* prowadzącą do wysokiej nadekspresji operonu *smeU1VWU2X* i w konsekwencji do nadprodukcji systemu pomp *SmeVWX* aktywnie usuwających lewofloksacynę (i inne leki) z komórki bakterii.

Dodatkowo Doktorantka przeprowadziła analizę epidemiologiczną wszystkich izolatów *S. maltophilia* metodą PFGE obserwując ich znaczne zróżnicowanie genetyczne. W badanej puli znalazły się jednak dwie grupy pulsotypów liczące po kilka izolatów pochodzących z krwi pacjentów hospitalizowanych w okresie 2010-2013, w obrębie których stwierdzono 100% podobieństwo, co sugeruje występowanie zakażeń związanych z opieką medyczną, wywoływanych przez drobnoustroje bytujące w środowisku szpitalnym. Kandydatka wykonała także typowanie MLST 3 szczepów izolowanych z krwi odkrywając 9 nowych sekwencji genów metabolizmu podstawowego i 2 nowe typy sekwencyjne (ST498 i ST499). Te ostatnie zostały zdeponowane w międzynarodowej bazie PubMLST, co obok publikacji, stanowi istotny wkład Doktorantki do tego obszaru nauki.

Mgr O. Zając zrealizowała wszystkie założone cele badawcze, a uzyskane wyniki zostały poddane analizie w dyskusji, w której Doktorantka odniosła się do aktualnego, liczącego 74 pozycje piśmiennictwa (w pozycji 18, będącej odniesieniem do strony internetowej zabrakło informacji o dacie wejścia na stronę). Jednak duża część dyskusji zawiera w istocie szczegółowe wyniki badań (w tym tabelę) i w mojej ocenie dla większej przejrzystości lepiej byłoby osobno omówić wyniki (włączając w to informacje zawarte w podsumowaniu) i osobno przeprowadzić dyskusję. Wyniki prac Kandydatki pozwoliły na wyciągnięcie 3 w pełni uprawnionych i dobrze sformułowanych wniosków.

W podsumowaniu stwierdzam, że recenzowana praca mgr Olgi Marianny Zając spełnia kryteria rozprawy na stopień doktora nauk medycznych. Wchodzące w jej skład publikacje są spójne tematycznie i zostały zaprezentowane w czasopismach o wysokim współczynniku oddziaływania – ich łączny IF wynosi 10,622, a suma punktów MEN – 215. Ponadto efektem Jej prac jest odkrycie 9 nowych sekwencji genów metabolizmu podstawowego i 2 nowych typów sekwencyjnych *S. maltophilia* zdeponowanych w międzynarodowej bazie PubMLST. Poczynione przez Kandydatkę obserwacje mają wartość poznawczą i praktyczną – częściowo wyjaśniają mechanizmy oporności na lewofloksacynę (i inne środki) u tego drobnoustroju, co może mieć znaczenie w badaniach nad nowymi lekami oraz wskazują na ryzyko zakażeń szpitalnych związanych z długotrwałym bytowaniem tego drobnoustroju w środowisku szpitalnym.

Składam zatem wniosek do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie mgr Olgi Marianny Zając do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Podpis jest prawidłowy

Dokument podpisany przez KATARZYNA
DZIERŻANOWSKA-FANORAT
Data: 2023.09.19 10:54:45 CEST

