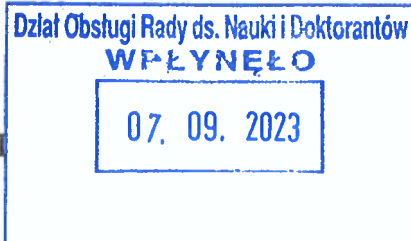




UNIwersytet Jagielloński
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE



Wydział Lekarski

Ocena rozprawy doktorskiej na stopień doktora nauk medycznych pt.:
„Badanie obecności pomp MDR oraz ich udziału w oporności szczepów
klinicznych *Stenotrophomonas maltophilia* na związku przeciwbakteryjne”
pani mgr farm. Olgi Marianny Zajac

Niefermentujące pałeczki Gram-ujemne stają się jednym z dominujących problemów nowoczesnej medycyny chorób zakaźnych i mikrobiologii lekarskiej, przy czym dotyczy to przede wszystkim *Acinetobacter baumannii* i *Pseudomonas aeruginosa*, pozostałe gatunki mają mniejsze znaczenie klinicznego, a tym samym nie wzbudzają tak dużego zainteresowania naukowców. Jednak rodzaj *Stenotrophomonas*, charakteryzujący się niską wirulencją obejmującą pęcherzyki błonowe, LPS, adhezyny, w tym wici, pili i fimbrie, liczne białka i enzymy, system wydzielania, ale również umiejętność tworzenia biofilmów – jest o tyle ważnym elementem medycyny zakaźnej, że daje bardzo skąpe możliwości terapii. Najczęstszy w tej grupie gatunek *Stenotrophomonas maltophilia* bywa izolowany z materiałów klinicznych, a że zakażenia o tej etiologii dotyczą szczególnie populacji wrażliwych, jak pacjenci w neutropenii czy hospitalizowani w oddziałach intensywnej terapii, a ich śmiertelność sięga 70%. Jest to również związane z wysoką naturalną opornością tej pałeczki na antybiotyki, a jednym z elementów ograniczających jej wrażliwość jest umiejętność ich aktywnego usuwania z wykorzystaniem błonowych pomp effluxowych. Zatem wybór tematu pracy jest bardzo aktualny i mający duże wartości praktyczne.

Przedłożona do recenzji praca liczy 103 strony, przy czym zasadnicza części pracy, tj. przedstawienie i omówienie zajmuje 39 stron. Pewnym mankamentem było przeniesienie spisu piśmiennictwa dopiero na stronę 92 – odnalezienie tej części pracy nie było łatwe. Ogółem całość ma typowy dla pracy doktorskiej będącej monotematycznym cyklem prac układ, tj. została podzielona na następujące rozdziały: wstęp, założenia i cele pracy, dyskusja badań eksperymentalnych oraz: streszczenie/abstract, wykaz skrótów, spis tabel i rycin. Piśmiennictwo obejmuje 74 pozycji, obejmujące tylko aktualne, świetnie dobrane prace publikowane w topowych czasopismach z dziedziny nauk medycznych i z zakresu przedmiotu badań. Prowadzone prace badawcze uzyskały pozytywną ocenę Komisji Bioetycznej przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym (załącznik, rozdział 11).

Szkoda, że Autorka nie zaproponowała jeszcze jednego, dodatkowego rozdziału „Wnioski”, pozwoliłoby to usystematyzować i zsyntetyzować uzyskaną nową wiedzę, przejść od szczegółu do ogółu i pokazać jak ważnym wkładem w wiedzę ogólną daje prezentowana praca. Nie tylko

Katedra Mikrobiologii

31-121 Kraków, ul. Czysła 18, tel. +48 12 633 25 67, faks +48 12 423 39 24

www.km.cm-uj.krakow.pl



UNIwersytet Jagielloński
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Lekarski

o badanych szczepach *S.malthophilia*, ale i o samym mechanizmie pompy, bo jest to częsta cecha bakterii, a w dodatku rzadko bywa swoista, więc dla wielu bakterii jest mechanizmem uniwersalnym dla obrony przed antybiotykami.

We wstępie (str. 14-28) Autorka przedstawia bohaterkę swoich badań, pałeczkę *S.malthophilia*, jej chorobotwórczość, leczenie i antybiotykoodporność, ze szczególnym uwzględnieniem mechanizmu usunięcia leku z komórki i wybranych rodzin pomp: Resistance-Nodulation-Division (RND), ATP Binding Cassette (ABC), Major Facilitator (MFS) wraz z omówieniem systemów regulujących ich ekspresję. We wstępie Autorka sporo miejsca poświęciła metodom genotypowania *S.malthophilia*, wskazując, że w przeciwieństwie do innych pałeczek niefermentujących, obecnie stosowane metody nie identyfikują epidemi klonalnych o etiologii *S.malthophilia*, jednak nie wiadomo czy wynika to z tak znaczącej różnorodności, czy z ograniczenia metody. Autorka podkreśliła, że dużą nadzieję wiąże się z wykorzystaniem nowoczesnych metod sekwencjonowania.

Założenia i cele pracy (str. 29) zostały sformułowane jasno – Autorka zamierzała poddać badaniu udział wybranych pomp błonowych szczepów klinicznych *S.malthophilia* w ograniczeniu wrażliwości na związki przeciwdrobnoustrojowe biorąc pod uwagę zarówno fenotypowy poziom lekowrażliwości, ekspresji genów kodujących aktywność pomp, jak i zróżnicowanie genetyczne badanych szczepów i genów kodujących systemy regulatorowe.

Rozdział „Dyskusja Badań Eksperymentalnych”, w którym dokonano omówienia wyników (str. 31-39) jest napisany ładnym językiem, płynnie, czyta się go z zainteresowaniem, czytelnik czuje, że omawiany temat nie był tylko tematem pracy doktorskiej, ale jest pasją Doktorantki.

Autorka krytycznie i bardzo rzetelnie odnosi się do szerokiego przeglądu adekwatnej do tematu najnowszej literatury, po kolei omawia swoje wyniki badań, wnikliwie i krytycznie je analizuje, porównując z wynikami innych badaczy. Należy podkreślić, że w pracy wykorzystano główne literaturę z bardzo dobrych recenzowanych czasopism anglojęzycznych z IF. Autorka wykazała się zatem nie tylko dobrym rozeznaniem tematu, ale również umiejętnością korzystania z naukowych baz danych, umiejętność niezwykle cenna dla każdego badacza.

Nie niemniej jednak nie uniknięto kilku błędów, czy niejasności.

Jedną z najważniejszych to pochodzenie szczepów. W pracy jest mowa o 94 szczepach klinicznych, wśród których 27 zostało wyizolowanych z posiewów krwi, prawdopodobnie od pacjentów z objawami zakażenia krwi, bo *S.malthophilia* nie bywa typowym kontaminantem – w tej sytuacji opis nie pozostawia żadnych wątpliwości. Natomiast w pozostałych przypadkach nie ma żadnej informacji, która potwierdzałaby kliniczność szczepów. Przykładem może być informacja o izolacji *S.malthophilia* z wydzieliny

Katedra Mikrobiologii

31-121 Kraków, ul. Czysła 18, tel. +48 12 633 25 67, faks +48 12 423 39 24

www.km.cm-uj.krakow.pl



UNIwersytet Jagielloński
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Lekarski

oskrzelowej, podczas, gdy materiał ten podlega ocenie ilościowej – interpretacja zależy od metody pobrania materiału i miana szczepu – dopiero tak opracowany materiał pozwala na uznanie izolatu za czynnik etiologiczny zakażenia bądź za kolonizację/zanieczyszczenie. Zwracam też uwagę, że jako szczepy kliniczne opisano też te izolowane z: wymazów z odbytu (14 przypadków), wymazów z drenu (3 przypadki), wymazów ze stomii, z jamy ustnej, z gastrostomii (po 2 przypadki) oraz wymaz z pochwy i z nosa (po 1 przypadku). Nie podano żadnych danych dodatkowych, które potwierdzałyby by zasadność uznania tych izolatów za czynnik etiologiczny zakażeń – Autorka nie przedstawiła żadnej informacji, która potwierdzałaby związek izolacji *S.malthophilia* ze wskazanymi materiałami z aktywnym zakażeniem.

W dalszej części badania, oznaczając lekowrażliwość szczepów Autorka posługiwała się metodyką CLSI, co jest zrozumiałe przy braku tego typu europejskich zaleceń European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, ale to sprawia, że nie podając zakresów wrażliwości, a jedynie ich interpretacje – wartość praktyczna pracy jest znacznie ograniczona, bo czytelnik nie zna szerszego kontekstu i nie może wyrobić sobie opinii w odniesieniu do własnych obserwacji. Szczególnie, że o części szczepów napisano, że są niewrażliwe, a przy braku wiedzy, czy CLSI dla *S.malthophilia* wyznaczył zakres inne niż wrażliwy/oporny czytelnik nie, co oznacza zapis „niewrażliwy”. Nie wiadomo też, które szczepy wykazały oporność, czy to były te izolowane z przypadków zakażeń – szczególnie zakażeń krwi czy też z innych materiałów – co ma kardynalne znaczenie w klinice zakażeń, szczególnie dla tak wysoko naturalnie opornych drobnoustrojów.

Jednak stwierdzam, że wymienione powyżej drobne niedociągnięcia nie wpływają na bardzo wysoką ocenę nowatorskiej pracy Doktorantki, której niepodważalnym walorem jest to, iż poza wartościami poznawczymi posiada wartości praktyczne i stanowi dowód umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Należy podkreślić, że Autorka zastosowała bardzo nowoczesną i różnorodną metodologię. Pracę oceniam, jako bardzo dobrą i wyróżniającą się.

Rozprawa doktorska mgr Olgi Marianny Zajac pt. „Badanie obecności pomp MDR oraz ich udziału w oporności szczepów klinicznych *Stenotrophomonas malthophilia* na związku przeciwbakteryjne” spełnia wszystkie warunki określone art. 13 ust. 1 w Ustawy z 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. Nr 65, poz. 595 z późniejszymi zmianami), tj. stanowi oryginalne rozwiązanie zagadnienia naukowego oraz dowodzi ogólnej wiedzy teoretycznej i umiejętności tworzenia warsztatu badawczego.

Katedra Mikrobiologii

31-121 Kraków, ul. Czysta 18, tel. +48 12 633 25 67, faks +48 12 423 39 24

www.km.cm-uj.krakow.pl



UNIwersytet Jagielloński
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Lekarski

Przedkładam Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o przyjęcie pracy i o dopuszczenie mgr Olgi Marianny Zając do dalszych etapów w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki farmaceutyczne. Równocześnie ze względu na wysoki poziom rozprawy, wnioskuję o wyróżnienie opiniowanej dysertacji.

Jako recenzent, który wnikliwie zapoznał się z treścią w/w pracy doktorskiej, z pełną odpowiedzialnością mogę stwierdzić, że zarówno tematyka, jak i całokształt prac badawczych, wykonanych i przejrzycie przedstawionych przez Doktorantkę w tej starannie sporządzonej rozprawie, wyraźnie przewyższa przeciętne wymagania stawiane pracom doktorskim w zakresie nauk farmaceutycznych.

Kraków, dnia 28 lipca 2023

[Faint blue stamp]

Zakład Kontroli Zakażeń
i Mykologii UJ CM
[Signature]
prof. dr hab. Jadwiga Wyjawska-Mach
kierownik
(1)

Katedra Mikrobiologii

31-121 Kraków, ul. Czysta 18, tel. +48 12 633 25 67, faks +48 12 423 39 24

www.km.cm-uj.krakow.pl