

Recenzja pracy magister Marty Biedrzyckiej

pt. „Struktury klonalne populacji wytwarzających karbapenemazy szczepów *Klebsiella* spp. w Polsce: genotypy epidemiczne, ich filogeneza, mechanizmy lekooporności i czynniki zjadliwości” na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne

Przedmiotem rozprawy doktorskiej mgr Marty Biedrzyckiej jest bardzo aktualny i ważny problem molekularnej epidemiologii szczepów *Klebsiella* spp. wytwarzających karbapenemazy w Polsce. Bakterie z rodzaju *Klebsiella* należą obecnie do najważniejszych patogenów alarmowych odpowiedzialnych za zakażenia związane z opieką zdrowotną i stanowią jedną z najczęstszych przyczyn sepsy, zapaleń płuc, zakażeń układu moczowego oraz zakażeń miejsca operowanego u pacjentów hospitalizowanych. Poza tym są także częstym czynnikiem etiologicznym ciężkich zakażeń pozaszpitalnych. Ich narastająca wielolekooporność istotnie ogranicza możliwości skutecznego leczenia, zwiększa śmiertelność oraz sprzyja występowaniu ognisk epidemicznych.

Szczególne zagrożenie stanowią szczepy wytwarzające karbapenemazy, których wysoki potencjał epidemiczny wynika nie tylko z ekspansji klonalnej, ale również z efektywnego horyzontalnego transferu mobilnych elementów genetycznych przenoszących determinanty oporności. Dodatkowym, niezwykle niepokojącym zjawiskiem jest coraz częstsze współwystępowanie genów oporności i czynników zjadliwości, prowadzące do powstawania szczepów łączących cechy hiperwirulencji i wielolekooporności, uznawanych obecnie za istotne zagrożenie dla zdrowia publicznego. Poznanie mechanizmów odpowiedzialnych za ewolucję i rozprzestrzenianie się producentów karbapenemaz ma zatem fundamentalne znaczenie zarówno dla zrozumienia współczesnej epidemiologii tych drobnoustrojów, jak i dla kształtowania skutecznych strategii nadzoru epidemiologicznego oraz kontroli zakażeń.

Rozprawa doktorska została przygotowana na podstawie spójnego tematycznie cyklu czterech publikacji oryginalnych i zawiera następujące części: słowa kluczowe, informacje o finansowaniu badań, podziękowania, wykaz publikacji wchodzących w skład cyklu, spis treści, listę skrótów, streszczenia w języku polskim i angielskim, wprowadzenie, cele pracy, kopie opublikowanych artykułów, wnioski, piśmiennictwo oraz oświadczenia współautorów określające ich wkład w przygotowanie poszczególnych publikacji. Z wyjątkiem podziękowań, streszczenia oraz oświadczeń współautorów, wszystkie pozostałe części rozprawy zostały przygotowane w języku angielskim.

Rozprawa została przygotowana bardzo starannie pod względem merytorycznym. Rozdział „Introduction” stanowi obszerne i wartościowe opracowanie aktualnego stanu wiedzy dotyczącego zagadnień będących przedmiotem rozprawy. W sposób uporządkowany, oparty na aktualnym piśmiennictwie, omówiono znaczenie kliniczne

bakterii z rodzaju *Klebsiella*, mechanizmy oporności na antybiotyki, najważniejsze czynniki wirulencji, rolę ruchomych elementów genetycznych w szerzeniu genów oporności i wirulencji oraz strukturę populacyjną i klonalność *Klebsiella* spp. Rozdział ten stanowi cenne kompendium wiedzy, dobrze wprowadzające czytelnika w problematykę badawczą i uzasadniające celowość podjętych badań. Pewne wątpliwości budzi jednak konstrukcja dalszej części rozprawy. W obrębie rozdziału „Introduction” umieszczono bowiem również podrozdział „Molecular epidemiology of carbapenemase-producing *Klebsiella* spp. in Poland”, który stanowi syntetyczne omówienie wyników badań przedstawionych w publikacjach wchodzących w skład rozprawy, a następnie podrozdział „Discussion”, zawierający ich interpretację i odniesienie do aktualnego piśmiennictwa. Dopiero po omówieniu wyników oraz ich dyskusji sformułowano cele pracy, następnie zamieszczono pełne teksty publikacji stanowiących podstawę rozprawy, a na końcu przedstawiono wnioski. Taki układ odbiega od klasycznej logiki prezentacji rozprawy naukowej, zgodnie z którą po przedstawieniu stanu wiedzy formułowane są cele pracy, następnie przedstawiany jest materiał badawczy (w tym przypadku publikacje stanowiące podstawę rozprawy), a dopiero później następuje dyskusja uzyskanych wyników i sformułowanie wniosków. W konsekwencji czytelnik zapoznaje się z omówieniem i interpretacją wyników jeszcze przed poznaniem celów pracy i przedstawieniem publikacji, z których wyniki te pochodzą, co w pewnym stopniu utrudnia odbiór rozprawy i zaburza przejrzystość jej konstrukcji. Nie wpływa to jednak na wysoką wartość merytoryczną rozprawy.

Doktorantka postawiła sobie ambitny cel wyjaśnienia czynników i mechanizmów odpowiedzialnych za ekspansję producentów karbapenemaz z rodzaju *Klebsiella* w Polsce, ze szczególnym uwzględnieniem roli ekspansji klonalnej, horyzontalnego transferu mobilnych elementów genetycznych oraz importu nowych genotypów. Cele szczegółowe obejmowały molekularną charakterystykę wybranych genotypów epidemicznych, analizę ich pochodzenia i rozprzestrzeniania się oraz charakterystykę producentów karbapenemaz izolowanych od pacjentów przybyłych z Ukrainy w kontekście krajowej sytuacji epidemiologicznej. Założone cele zostały w pełni zrealizowane i przedstawione w publikacjach oryginalnych wchodzących w skład rozprawy doktorskiej. Badania będące podstawą rozprawy Doktorantka prowadziła w ramach grantów naukowych Narodowego Centrum Nauki, Ministerstwa Edukacji i Nauki, Ministerstwa Zdrowia oraz Narodowego Instytutu Leków.

Na cykl publikacji składają się cztery prace oryginalne opublikowane w renomowanych czasopismach międzynarodowych o wysokim współczynniku oddziaływania (Impact Factor): „Dissemination of *Klebsiella pneumoniae* ST147 NDM-1 in Poland, 2015–19” (Journal of Antimicrobial Chemotherapy), „Country-wide expansion of a VIM-1 carbapenemase-producing *Klebsiella oxytoca* ST145 lineage in Poland, 2009–2019” oraz „Multiple regional outbreaks caused by global and local VIM-producing *Klebsiella pneumoniae* clones in Poland, 2006–2019” (obie w European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases), a także „Carbapenemase-producing Enterobacterales from patients arriving from Ukraine in Poland, March 2022–February 2023” (Infectious Diseases and Therapy). We wszystkich publikacjach Doktorantka jest pierwszym autorem, co świadczy o jej wiodącej roli w planowaniu i realizacji badań, analizie uzyskanych wyników oraz

przygotowaniu manuskryptów, co znajduje także potwierdzenie w oświadczeniach współautorów.

Największą wartością naukową rozprawy jest nie tylko szczegółowa charakterystyka wybranych klonów *Klebsiella* spp., ale przede wszystkim wyjaśnienie mechanizmów odpowiedzialnych za ich rozprzestrzenianie się. Na szczególne podkreślenie zasługuje właściwy dobór nowoczesnych metod badawczych, obejmujących sekwencjonowanie całogenomowe oraz zaawansowane analizy filogenetyczne i bioinformatyczne, które umożliwiły przeprowadzenie kompleksowej charakterystyki molekularnej analizowanych izolatów. Uzyskane wyniki pozwoliły Doktorantce wykazać szereg istotnych zależności epidemiologicznych. W szczególności Kandydatka:

- wykazała, że rozprzestrzenianie się analizowanych producentów karbapenemaz było wynikiem współdziałania ekspansji klonalnej, horyzontalnego transferu mobilnych elementów genetycznych oraz wielokrotnych introdukcji nowych linii epidemicznych z zagranicy;
- scharakteryzowała strukturę klonalną producentów karbapenemaz z rodzaju *Klebsiella* w Polsce, identyfikując zarówno globalne klony wysokiego ryzyka, jak i lokalne linie epidemiczne oraz określając ich pochodzenie, drogi szerzenia i znaczenie w krajowej epidemiologii;
- wykazała, że poszczególne genotypy *K. pneumoniae* odpowiadały za regionalne ogniska epidemiczne producentów VIM w różnych częściach kraju, dostarczając oryginalnych danych dotyczących epidemiologii tych szczepów w Polsce;
- udokumentowała szczególną rolę kompleksu *Klebsiella oxytoca* w epidemiologii producentów VIM w Polsce, opisując wieloletnią ekspansję linii ST145 oraz wskazując na jej unikatowy charakter na tle danych międzynarodowych;
- potwierdziła znaczenie międzynarodowego transferu szczepów, opisując import wysokiego ryzyka klonów producentów karbapenemaz, w tym szczepów pochodzących z Ukrainy, charakteryzujących się jednoczesnym występowaniem licznych mechanizmów oporności i genów hiperwirulencji;
- wskazała na kluczową rolę różnorodnych mobilnych elementów genetycznych, w tym integronów, transpozonów i plazmidów, w szerzeniu genów karbapenemaz oraz zwróciła uwagę na zagrożenie związane z rozpowszechnianiem hybrydowych plazmidów łączących cechy wielolekooporności i hiperwirulencji.

Przedstawione wyniki w istotny sposób poszerzają wiedzę na temat molekularnej epidemiologii producentów karbapenemaz z rodzaju *Klebsiella* w Polsce oraz mechanizmów odpowiedzialnych za ich rozprzestrzenianie się. Rozprawa dostarcza oryginalnych danych o dużym znaczeniu poznawczym, które mogą znaleźć zastosowanie w nadzorze epidemiologicznym oraz działaniach z zakresu kontroli zakażeń. Jednocześnie, moim zdaniem, praktyczne znaczenie uzyskanych wyników nie zostało w rozprawie dostatecznie wyeksponowane, przez co praca pozostawia pewien niedosyt w zakresie ich szerszej interpretacji i implikacji dla ochrony zdrowia.

Znajduje to również odzwierciedlenie w rozdziale „Conclusions”, który ma przede wszystkim charakter podsumowania uzyskanych wyników. Choć Autorka słusznie

podkreśla zagrożenie związane z rozprzestrzenianiem się określonych klonów wysokiego ryzyka oraz szczepów łączących cechy hiperwirulencji i wielolekooporności, wnioski końcowe mogłyby w większym stopniu wykraczać poza ocenę samych zjawisk epidemiologicznych i wskazywać ich konsekwencje dla organizacji nadzoru epidemiologicznego oraz działań z zakresu kontroli zakażeń w naszym kraju.

Uzyskane wyniki Doktorantka poddała wszechstronnej analizie w dyskusji, odnosząc je do aktualnego, bardzo bogatego piśmiennictwa. Szczególną wartość tej części pracy stanowi przedstawienie wyników Kandydatki w szerokim kontekście czasowym i geograficznym. Dzięki zestawieniu własnych obserwacji z danymi krajowymi i międzynarodowymi Autorka pokazuje, w jaki sposób opisywane zjawiska wpisują się w dynamicznie zmieniającą się epidemiologię producentów karbapenemaz oraz uzupełniają obraz ich rozprzestrzeniania się w Polsce.

Na podkreślenie zasługuje również wnikliwe omówienie ograniczeń przeprowadzonych badań. Kandydatka zwróciła uwagę przede wszystkim na retrospektywny charakter badań. Ponadto trafnie wskazała na ograniczoną reprezentatywność części materiału, zwłaszcza kolekcji szczepów pochodzących od pacjentów z Ukrainy, oraz na wpływ liczby izolatów poddanych sekwencjonowaniu metodą długich odczytów na zakres możliwych analiz molekularnych. Tak krytyczna ocena własnych badań świadczy o rzetelności i dojrzałości naukowej Kandydatki.

W podsumowaniu stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska mgr Marty Biedrzyckiej spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668). Wchodzące w jej skład publikacje są spójne tematycznie, zostały zaprezentowane w czasopismach międzynarodowych o wysokim współczynniku oddziaływania, a przedstawione w nich wyniki wnoszą istotny wkład w poznanie epidemiologii producentów karbapenemaz w Polsce. Całość rozprawy świadczy o dojrzałości naukowej Kandydatki, jej bardzo dobrym przygotowaniu metodologicznym oraz umiejętności prowadzenia i krytycznej interpretacji badań z zakresu epidemiologii molekularnej. Składam zatem wniosek do Wysockiej Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie mgr Marty Biedrzyckiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.