

# Autoreferat

**dr Marzanna Łusiak-Szelachowska**



Laboratorium Bakteriofagowe  
Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej  
im. Ludwika Hirsfelda  
Polska Akademia Nauk

Wrocław, 6 czerwca 2022

**1. Imię i nazwisko**

**Marzanna Łusiak-Szelachowska** (ORCID: 0000-0001-8535-258X)

**2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne - z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.**

26.11.1999 Doktor nauk biologicznych nadany przez Radę Naukową Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej Polskiej Akademii Nauk, (IITD PAN) Wrocław, tytuł rozprawy: „Zdolność komórek krwi obwodowej pacjentów chorych na kiłę do wytwarzania niektórych cytokin”, promotor w przewodzie doktorskim Doc. Dr hab. Jadwiga Podwińska

20.06.1994 Magister biologii ze specjalnością mikrobiologia, Uniwersytet Wrocławski, Wydział Nauk Przyrodniczych, Wrocław, tytuł pracy: „Spektrofotometryczna analiza anormalnego składnika widma cytochromowego mutantu oddechowego *Saccharomyces cerevisiae*”, promotor pracy Prof. dr hab. Andrzej Morawiecki

**3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych.**

1.02.1996-1.02.2000 Pracownik Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN na stanowisku asystenta, Zakład Immunologii Chorób Zakaźnych, Laboratorium Mikrobiologii Lekarskiej

1.02.2000-20.10.2010 Pracownik Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN na stanowisku adiunkta, Laboratorium Bakteriofagowe

20.10.2010-obecnie Pracownik Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN na stanowisku specjalista badawczo-techniczny, Laboratorium Bakteriofagowe

**4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.).**

Osiągnięciem jest umieszczony poniżej jednotematyczny cykl 5 prac (4 publikacje oryginalne i 1 rozdział w książce) objęty tytułem:

**„Aktywność antyfazogowa surowic chorych poddanych terapii fagowej”**

Jednotematyczny cykl publikacji został przygotowany w ramach mojej pracy w Laboratorium Bakteriofagowym Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu.

a) Publikacje oryginalne wchodzące w skład osiągnięcia naukowego:

1. Łusiak-Szelachowska M., Żaczek M., Weber-Dąbrowska B., Międzybrodzki R., Kłak M., Fortuna W., Letkiewicz S., Rogóż P., Szufnarowski K., Jończyk-Matysiak E., Owczarek B., Górski A. Phage neutralization by sera of patients receiving phage therapy. *Viral Immunol.*, 2014, 27(6), 295-304. doi: 10.1089/vim.2013.0128. IF 1,446 (15 pkt MNiSW) (106 cyt. – *Scopus*, 107 cyt. – *Web of Science*).

2. Żaczek M., Łusiak-Szelachowska M., Jończyk-Matysiak E., Weber-Dąbrowska B., Międzybrodzki R., Owczarek B., Kopciuch A., Fortuna W., Rogóż P., Górski A. Antibody production in response to staphylococcal MS-1 phage cocktail in patients undergoing phage therapy. *Front. Microbiol.*, 2016, Oct 24, 7, 1681. doi:10.3389/fmicb.2016.01681. IF 4,076 (35 pkt MNiSW) (52 cyt. – *Scopus*, 49 cyt. – *Web of Science*).

3. Łusiak-Szelachowska M., Żaczek M., Weber-Dąbrowska B., Międzybrodzki R., Letkiewicz S., Fortuna W., Rogóż P., Szufnarowski K., Jończyk-Matysiak E., Olchawa E., Walaszek K.M., Górski A. Antiphage activity of sera during phage therapy in relation to its outcome. *Future Microbiol.*, 2017, Feb, 12(2), 109-117. doi: 10.2217/fmb-2016-0156. ISSN: 1746-0913. IF 3,190 (35 pkt MNiSW) (48 cyt. – *Scopus*, 49 cyt. - *Web of Science*).
4. Łusiak-Szelachowska M., Międzybrodzki R., Fortuna W., Borysowski J., Górski A. Anti-phage serum antibody responses and the outcome of phage therapy”. *Folia Microbiol.* 2021, 66(1), 127-131. doi: 10.1007/s12223-020-00835-z. IF 2,099 (40 pkt MEiN). (5 cyt. – *Scopus*, 4 cyt. – *Web of Science*).

b) Rozdział w książce wchodzący w skład osiągnięcia naukowego:

5. Żaczek M., Łusiak-Szelachowska M., Weber-Dąbrowska B., Międzybrodzki R., Fortuna W., Rogóż P., Letkiewicz S., Górski A. Humoral immune response to phage-based therapeutics. In: Górski A, Międzybrodzki R, Borysowski J (ed) *Phage Therapy: A Practical Approach*, Springer Nature Switzerland; 1st edn. 2019. ISBN: 978-3-030-26736-0; ISBN: 978-3-030-26735-3. doi: 10.1007/978-3-030-26736-0\_5. (80 pkt MNiSW) (4 cyt. – *Scopus*, 5 cyt. – *Web of Science*).

*Ilość cytowań zgodnie z bazami Scopus i Web of Science – stan na dzień 23.05.2022.*

*Index Hirscha – 17 (Scopus), 18 (Web of Science) – stan na dzień 23.05.2022.*

*IF zgodnie z rokiem opublikowania.*

*Liczba punktów MNiSW zgodnie z rokiem opublikowania.*

*Łączny IF pięciu prac objętych rozprawą habilitacyjną wynosi 10,811, łączna ilość pkt. MNiSW wynosi 205 i łączna ilość cytowań wynosi zgodnie z bazą Scopus: 215, zgodnie z bazą Web of Science: 214.*

### **Oświadczenia habilitanta wskazujące na merytoryczny wkład w powstanie prac**

1. Łusiak-Szelachowska M., Żaczek M., Weber-Dąbrowska B., Międzybrodzki R., Kłak M., Fortuna W., Letkiewicz S., Rogóż P., Szufnarowski K., Jończyk-Matysiak E., Owczarek B., Górski A. Phage neutralization by sera of patients receiving phage therapy. *Viral Immunol.*, 2014, 27(6), 295-304. doi: 10.1089/vim.2013.0128.

*Indywidualny wkład w autorstwo: brałam wiodący udział w planowaniu badań współczynnika K u chorych i zdrowych, brałam udział w badaniach poziomu współczynnika K u pacjentów poddanych terapii fagowej i osób zdrowych, wiodący udział w analizowaniu danych, wiodący udział w przygotowywaniu manuskryptu artykułu.*

2. Żaczek M., Łusiak-Szelachowska M., Jończyk-Matysiak E., Weber-Dąbrowska B., Międzybrodzki R., Owczarek B., Kopciuch A., Fortuna W., Rogóż P., Górski A. Antibody production in response to staphylococcal MS-1 phage cocktail in patients undergoing phage therapy. *Front. Microbiol.*, 2016, Oct 24, 7, 1681. doi:10.3389/fmicb.2016.01681.

*Indywidualny wkład w autorstwo: brałam wiodący udział w planowaniu badań współczynnika K u chorych i zdrowych, badałam poziom współczynnika K u pacjentów poddanych terapii fagowej i osób zdrowych, udział w analizowaniu danych, udział w przygotowywaniu manuskryptu artykułu, poprawiałam manuskrypt artykułu.*

3. Łusiak-Szelachowska M., Żaczek M., Weber-Dąbrowska B., Międzybrodzki R., Letkiewicz S., Fortuna W., Rogóż P., Szufnarowski K., Jończyk-Matysiak E., Olchawa E., Walaszek K.M., Górski A. Antiphage activity of sera during phage therapy in relation to its outcome. *Future Microbiol.*, 2017, Feb, 12(2), 109-117. doi: 10.2217/fmb-2016-0156. ISSN: 1746-0913.

*Indywidualny wkład w autorstwo: brałam wiodący udział w planowaniu badań współczynnika K u chorych i zdrowych, badałam poziom współczynnika K u pacjentów poddanych terapii fagowej w roku 2014 i osób zdrowych, wiodący udział w analizowaniu danych, wiodący udział w przygotowywaniu manuskryptu artykułu, dokonywałam krytycznej oceny manuskryptu artykułu.*

4. Łusiak-Szelachowska M., Międzybrodzki R., Fortuna W., Borysowski J., Górski A. Anti-phage serum antibody responses and the outcome of phage therapy”. *Folia Microbiol.* 2021, 66(1), 127-131. doi: 10.1007/s12223-020-00835-z.

*Indywidualny wkład w autorstwo: brałam wiodący udział w planowaniu badań współczynnika K u chorych i zdrowych, badałam poziom współczynnika K u pacjentów poddanych terapii fagowej i osób zdrowych, wiodący udział w analizowaniu danych, udział w przygotowywaniu manuskryptu artykułu.*

5. Żaczek M., Łusiak-Szelachowska M., Weber-Dąbrowska B., Międzybrodzki R., Fortuna W., Rogóż P., Letkiewicz S., Górski A. Humoral immune response to phage-based therapeutics. In: Górski A, Międzybrodzki R, Borysowski J (ed) *Phage Therapy: A Practical Approach*, Springer Nature Switzerland; 1st edn. 2019. ISBN: 978-3-030-26736-0; ISBN: 978-3-030-26735-3. doi: 10.1007/978-3-030-26736-0\_5.

*Indywidualny wkład w autorstwo: brałam wiodący udział w planowaniu badań współczynnika K u chorych, wiodący udział w badaniach poziomu współczynnika K u pacjentów poddanych terapii fagowej, w tym nowe badania pacjentów stosujących monowalentne fagi *S. aureus* z tym samym typem infekcji i tym samym sposobem podania faga, analizowałam dane, udział w analizowaniu czynników wpływających na aktywność antyfagową surowic chorych, przygotowywałam część manuskryptu artykułu, poprawiałam manuskrypt artykułu.*

**Omówienie celu naukowego/artystycznego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.**

### **„Aktywność antyfagowa surowic chorych poddanych terapii fagowej”**

W ostatnich latach wiele prac sugeruje, że sama terapia fagowa lub w połączeniu z antybiotykami może skutecznie usuwać odporne na antybiotyki bakterie. Preparaty fagowe mogą wchodzić w interakcje z układem odpornościowym, co może wpływać na indukcję przeciwciał antyfagowych w surowicach chorych podczas terapii fagowej. Przeciwciała antyfagowe mogą neutralizować aktywność fagów, co może wpływać na ograniczenie zdolności fagów do niszczenia bakterii. Badania na myszach wykazały, że fagi jak i białka fagowe podane dootrzewnowo lub doustnie mogą indukować odpowiedź humoralną. Podanie faga *E. coli* T4 doustnie myszom indukowało niski poziom przeciwciał antyfagowych w jelicie i krwi (Majewska i wsp., *Viruses* 2015, 7, 4783-4799). Dostępne są nieliczne dane pochodzące z badań aktywności antyfagowej surowic (AAS) chorych i zdrowych osób stosujących fagi

doustnie. Wykazano brak przeciwciał antyfagowych w surowicach po 1 miesiącu podania doustnego faga *E. coli* T4 u 15 osób zdrowych (*Bruttin i Brüssow, Antimicrob. Agents Chemother. 2005, 49, 2874-2878*). Praca Kucharewicz-Krukowskiej i Ślopka (*Arch. Immunol. Ther. Exp. 1987, 35, 553-561*) wykazała, że podanie doustne fagów u chorych indukuje niskie poziomy AAS. Brak przeciwciał antyfagowych lub ich niskie poziomy w surowicach stwierdzono u niemowląt, którym podawano fagi doustnie (*Pagava i wsp., Georgian Med. News 2012, 212, 64-69*).

Ostatnio przedstawiono istotne wyniki badań dotyczące AAS pacjentów, z różnymi infekcjami opornymi na antybiotyki, podczas terapii fagowej (PT) w Ośrodku Terapii Fagowej IITD we Wrocławiu [**Publikacje 1-5** w niniejszym omówieniu tematu, pkt. 4 Autoreferatu]. Analizowano poziom AAS u 122 chorych z różnymi schorzeniami poddanych terapii fagowej w latach 2010-2013 [1], u 62 chorych z różnymi schorzeniami poddanych terapii fagowej w latach 2014-2015 [3] oraz u 25 chorych z zakażeniem zatok poddanych terapii fagowej w latach 2010-2019 [4]. Opublikowano również pracę dotyczącą badań poziomu przeciwciał antyfagowych IgG, IgA i IgM w surowicach i poziomu AAS u 20 chorych stosujących gronkowcowy koktajl fagowy MS-1 [2]. Opisano odpowiedź humoralną na fagi stosowane w terapii fagowej m.in. w Ośrodku Terapii Fagowej IITD w latach 2010-2019 [5].

Sprawdzono czy poziom aktywności antyfagowej surowic w czasie terapii fagowej zależy od typu infekcji, stanu immunologicznego pacjenta, dawki preparatu fagowego, drogi podania faga i czasu trwania terapii fagowej [1, 3, 5] oraz czy częstość występowania wysokiego poziomu AAS w czasie terapii fagowej zależy od rodzaju preparatu fagowego (fag monowalentny lub koktajl fagowy) [5]. Sprawdzono korelację pomiędzy poziomem aktywności antyfagowej surowic chorych i poziomem przeciwciał antyfagowych w surowicach w czasie terapii fagowej a wynikiem terapii fagowej, co mogłoby sugerować czy przeciwciała antyfagowe wpływają na przebieg terapii fagowej [2, 3, 4].

Chorzy z różnymi schorzeniami, w tym z zakażeniami dróg moczowo-płciowych, zakażeniami tkanek miękkich, zakażeniami kości, zakażeniami dróg oddechowych poddani byli terapii fagowej. Chorzy stosowali fagi, wybrane do leczenia na podstawie typowania fagowego (fagi wykazujące wysoką aktywność lityczną w stosunku do szczepu bakteryjnego pacjenta), doustnie, miejscowo, doustnie i miejscowo lub doodbytniczo zgodnie z protokołem „Experimental phage therapy of drug-resistant bacterial infections, including MRSA infections” (*Międzybrodzki i wsp., Adv. Virus Res. 2012, 83, 73-121*). Pacjenci stosowali lizaty monowalentnych fagów *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *S. marcescens*, *E. cloacae*, *M. morgani* lub koktajle fagowe *S. aureus* MS-1 (lizat) i *S. aureus*

## Załącznik 2. Autoreferat

OPMS-1 (preparat oczyszczony). Fagi były podawane: miejscowo 2 razy dziennie, doustnie 10-20 ml 3 razy dziennie 30 min. przed jedzeniem. W podaniu doustnym 20 min. przed podaniem fagów neutralizowano sok żołądkowy w celu ochrony faga. Fagi były podawane doodbytniczo 10-20 ml 2 razy dziennie. Terapia fagowa trwała do 12 tygodni z możliwością przedłużenia o 12 tygodni w przypadku gdyby stan chorego wymagał dalszej terapii fagowej. Badania poziomu AAS u chorych poddanych terapii fagowej w Ośrodku Terapii Fagowej IITD wykonywano po uzyskaniu zgody Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.

Poziom aktywności antyfagowej w surowicach chorych poddanych terapii fagowej i kontrolnie osób zdrowych badano płytkowym testem neutralizacji fagów, a poziom przeciwciał antyfagowych IgG, IgA i IgM w surowicach chorych i zdrowych badano metodą ELISA [1, 2]. Badania poziomu AAS wykonano według metody Adamsa (*Methods of study bacterial viruses, In: Bacteriophages, 1959, pp.443-522*) i Pescovitz i wsp. (*J. Allergy Clin. Immunol. 2011, 128, 1295*) z modyfikacją własną. Badano surowice nierozcieńczone oraz rozcieńczone od 1:10 do 1:1500. 50  $\mu$ l faga o mianie  $1 \times 10^6$  cząstek fagowych /ml dodano do każdego rozcieńczenia surowicy (450  $\mu$ l). Kontrolę miana faga wykonano dodając 50  $\mu$ l faga o mianie  $1 \times 10^6$  cząstek fagowych/ml do 450  $\mu$ l bulionu. Mieszaninę inkubowano przez 30 minut w 37°C. Po tym czasie pobrano 50  $\mu$ l mieszaniny i dodano do 4,95 ml zimnego bulionu. Miano faga świadczące o aktywności faga zbadano, na początku reakcji faga z surowicą i po 30 min. reakcji faga z surowicą, standardową techniką dwuwarstwowych płytek agarowych. 100  $\mu$ l mieszaniny i 200  $\mu$ l szczepu bakteryjnego dodano do 3 ml 0,7% agaru i wylano na płytki agarowe. Płytki inkubowano przez 8 godzin w 37°C. AAS oznaczano jako współczynnik inaktywacji faga K ( $K=2,3 \times (D/T) \times \log (P_0/P_t)$ ), gdzie D jest odwrotnością rozcieńczenia surowicy, T jest czasem reakcji faga z surowicą (30 min.),  $P_0$  miano faga na początku reakcji faga z surowicą i  $P_t$  jest mianem faga po czasie T reakcji faga z surowicą). Współczynnik K poniżej 5 uważano za słabą inaktywację fagów, K między 5 a 18 jako średni poziom, a powyżej 18 jako wysoki poziom inaktywacji fagów.

Badani pacjenci wykazywali bardzo słabe poziomy AAS przed PT ( $K \leq 1,84$ ). Zdrowe osoby wykazywały również bardzo niskie poziomy AAS przeciwko różnym fagom gronkowcowym, monowalentnym lub koktajlom fagowym ( $K \leq 1,96$ ) [1, 3, 5]. Wysokie poziomy AAS ( $K = 20-230$ ) wykryto głównie u pacjentów z infekcją kości, którym podawano miejscowo fagi. Doustne lub doodbytnicze podanie fagów (stosowane głównie w infekcjach tkanek miękkich i zakażeniach układu moczowo-płciowego) indukowało słabą odpowiedź

humoralną [1, 3, 5]. Około 50% pacjentów poddawanych terapii fagowej wykazuje niedobory odporności. U 15 pacjentów wykazano, że ten sam preparat faga gronkowcowego był neutralizowany przez surowice w niskim stopniu u 47% pacjentów w badanej grupie (ten sam typ choroby, ta sama droga podania faga) oraz w wysokim stopniu u 53% pacjentów w badanej grupie. Analiza uzyskanych wyników wykazała, że identyczne fagi indukują różne poziomy przeciwciał przeciw fagom podczas terapii fagowej, co prawdopodobnie zależy od stanu immunologicznego pacjenta [5]. Wyższe poziomy AAS zaobserwowano przy stosowaniu oczyszczonego koktajlu fagowego w porównaniu z koktajlem fagowym w postaci lizatu, co może zależeć od miana preparatu fagowego [3]. Oczyszczony koktajl fagowy wykazywał wyższe miano niż lizat koktajlu fagowego ( $10^9$  cząstek fagowych/ml wobec  $10^6$ - $10^8$  cząstek fagowych/ml). Niski poziom neutralizacji fagów obserwowano podczas doustnej lub doodbytniczej terapii fagowej, podczas gdy terapia miejscowa lub zarówno miejscowa, jak i doustna może powodować wysoki poziom AAS od 15 do 60 dnia terapii u około 12% pacjentów spośród 122 przebadanych [1]. Średni lub wysoki poziom inaktywacji fagów przez surowice pacjentów ulegał obniżeniu po terapii. Wykazano wysoką dodatnią korelację między czasem trwania terapii fagowej a współczynnikiem inaktywacji faga K (współczynnik korelacji Spearmana dla czasu leczenia wszystkimi typami fagów gronkowcowych wynosił 0,85) [5]. Mediana najwcześniejszego dnia terapii, w której stwierdzono wysoki poziom neutralizacji faga  $K > 18$ , przypada na 41 dzień terapii [5]. Rodzaj preparatu fagowego (koktajl lub fag monowalentny) może wpływać na częstość występowania wysokiego poziomu AAS i tak 43% pacjentów stosujących miejscowo koktajl fagowy gronkowcowy wykazywało wysokie poziomy AAS, podczas gdy 17% pacjentów stosujących miejscowo monowalentne fagi gronkowcowe wykazywało wysokie poziomy AAS [5]. Sprawdzone ponadto korelację pomiędzy wyższymi poziomami przeciwciał przeciw fagom w surowicach a wyższymi poziomami AAS u chorych w trakcie terapii i stwierdzono zależność głównie dla przeciwciał IgG i IgM i współczynnika K u pacjentów stosujących koktajl fagowy *S. aureus* MS-1 [2].

Ostatnie badania wykazały, że wynik terapii fagowej nie zależy od poziomu AAS i poziomu przeciwciał antyfagowych [2-4]. Dobre wyniki kliniczne zaobserwowano u około 40% pacjentów z różnymi schorzeniami w tym zakażeniami tkanek miękkich, zakażeniami kości i zakażeniami dróg oddechowych z zarówno niskim, jak i wysokim AAS podczas terapii fagowej miejscowej [3]. Obserwacje potwierdzono w jednorodnej grupie chorych z zakażeniem zatok, gdzie stwierdzono pozytywne wyniki kliniczne u ok. 30% chorych stosujących fagi miejscowo lub doustnie i miejscowo zarówno z niskim współczynnikiem K jak i z wysokim współczynnikiem K [4]. Dane te świadczą o braku korelacji pomiędzy poziomem przeciwciał

antyfagowych w czasie terapii fagowej a wynikiem terapii fagowej. Okazało się, że poziom AAS jak i poziom przeciwciał antyfagowych w surowicach chorych w trakcie terapii fagowej nie wpływa na końcowy wynik terapii fagowej, bo w niektórych przypadkach przy wysokim poziomie przeciwciał antyfagowych obserwowano dobry wynik terapii. Również u niektórych chorych przy niskim poziomie przeciwciał wykazano nieskuteczną terapię fagową, co może być wynikiem niedoborów immunologicznych u tych pacjentów czy długotrwałą wcześniejszą terapią antybiotykową. Wysokie poziomy przeciwciał antyfagowych w surowicach, u niektórych pacjentów poddanych terapii fagowej, mogą być dobrym prognostycznym sygnałem sugerującym o lepszej zdolności układu immunologicznego do zwalczania infekcji [3].

Prognostyczne znaczenie, pojawiania się przeciwciał antyfagowych w surowicach, dla wyniku terapii fagowej powinno być określane w planowanych badaniach klinicznych [4]. Indukcja przeciwciał antyfagowych po dożylnym podaniu fagów jest stosowana do diagnostyki i monitorowania pacjentów z zespołami niedoborów odporności (*Ochs i wsp., J. Clin. Invest. 1971, 50, 2559-2568*). Metoda badania neutralizacji fagów jest wykorzystywana praktycznie do monitorowania występowania neutralizujących przeciwciał antyfagowych w surowicach pacjentów poddanych terapii fagowej w Ośrodku Terapii Fagowej IITD we Wrocławiu w celu ustalenia ich znaczenia w terapii.

**Za najważniejsze osiągnięte wyniki uważam:**

- **wykazanie, że poziom aktywności antyfagowej surowic oznaczanej jako współczynnik inaktywacji faga (K) u chorych poddanych terapii fagowej zależy od kilku czynników: typu infekcji, dawki preparatu fagowego, drogi podania faga, czasu trwania terapii fagowej i prawdopodobnie od stanu immunologicznego pacjenta.**
- **zaobserwowanie, że częstość występowania wysokiego poziomu aktywności antyfagowej surowic chorych w czasie terapii fagowej zależy od rodzaju preparatu fagowego (fag monowalentny lub koktajl fagowy).**
- **udowodnienie korelacji pomiędzy poziomem przeciwciał antyfagowych IgG i IgM w surowicach chorych leczonych fagami a współczynnikiem inaktywacji faga (K) w surowicach chorych leczonych fagami.**
- **wykazanie braku korelacji pomiędzy poziomem aktywności antyfagowej surowic chorych oraz przeciwciał antyfagowych w surowicach chorych w czasie terapii fagowej a wynikiem terapii fagowej.**



**W kolejnej części autoreferatu przedstawiono podsumowanie wyników opisanych w wybranych do oceny publikacjach.**

**1.Łusiak-Szelachowska M., Żaczek M., Weber-Dąbrowska B., Międzybrodzki R., Kłak M., Fortuna W., Letkiewicz S., Rogóż P., Szufnarowski K., Jończyk-Matysiak E., Owczarek B., Górski A. Phage neutralization by sera of patients receiving phage therapy. *Viral Immunol.*, 2014, 27(6), 295-304. doi: 10.1089/vim.2013.0128. IF 1,446 (15 pkt MNiSW) (106 cyt. – *Scopus*, 107 cyt. – *Web of Science*).**

Celem badań była ocena, czy terapia fagowa (PT) może indukować przeciwciała antyfagowe. Aktywność antyfagową oznaczano w surowicach 122 pacjentów, z różnymi zakażeniami bakteryjnymi w różnych schorzeniach, poddanych terapii w Ośrodku Terapii Fagowej IITD we Wrocławiu, przed i podczas PT oraz w surowicach od 30 zdrowych osób przy użyciu płytkowego testu neutralizacji. Pacjenci poddani byli terapii fagowej w latach 2010-2013. Pacjenci stosowali różne pojedyncze fagi (lizaty) *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *S. marcescens*, *E. cloacae*, *M. morgani* lub koktajl fagowy (lizat) *S. aureus* MS-1. Ponadto zbadano poziom przeciwciał antyfagowych w surowicach 19 pacjentów otrzymujących fagi gronkowcowe oraz w surowicach od 20 zdrowych osób przy użyciu ELISA. Fagi podawano doustnie, miejscowo, doustnie i miejscowo, doodbytniczo lub doustnie i doodbytniczo. Współczynnik inaktywacji fagów (K) określał poziom neutralizacji aktywności fagów przez surowice ludzkie. Poziom aktywności antyfagowej surowic (AAS) badano po 30-minutowej inkubacji faga z rozcieńczoną surowicą w 37°C stosując płytkowy test neutralizacji. Niski poziom neutralizacji fagów oznaczano jako współczynnik inaktywacji fagów  $K < 5$ , średni jako  $K = 5-18$  a wysoki jako  $K > 18$ .

Niskie współczynniki K przeciwko fagom *S. aureus* 676/Z i A3/R stwierdzono w surowicach 30 zdrowych osób ( $K \leq 1,73$ ). Niskie współczynniki K wykryto przed PT ( $K \leq 1,64$ ). Wysoką aktywność antyfagową surowicy  $K > 18$  ( $K = 19,87-227,96$ ) obserwowano u 12,3% badanych pacjentów ( $n=15$ ) leczonych fagami miejscowo ( $n=13$ ) lub miejscowo i doustnie ( $n=2$ ) od 15 do 60 dnia PT. Wysokie współczynniki K stwierdzono u pacjentów leczonych niektórymi fagami *S. aureus*, *P. aeruginosa* i *E. faecalis*. Wysoki współczynnik  $K > 18$  wykryto głównie u części pacjentów z zakażeniami kości stosujący fagi miejscowo. Niskie współczynniki K obserwowano podczas PT w surowicach pacjentów stosujących fagi doustnie ( $K \leq 1,04$ ). Zwiększona inaktywacja fagów przez surowice pacjentów otrzymujących PT uległa obniżeniu po terapii. Obserwowano, że surowice 3 pacjentów z  $K > 18$  w czasie PT stosujących faga *S. aureus* 676/Z również wykazywały wyższą wartość absorbancji mierzoną testem ELISA (oceniającą poziom przeciwciał antyfagowych wszystkie Ig). Pozostali pacjenci tej samej grupy badani testem ELISA wykazywali  $K < 6$  i nie obserwowano takiej korelacji (poziom przeciwciał w czasie terapii był niższy lub wyższy w porównaniu przed terapią).

Wyniki te sugerują, że aktywność antyfagowa w surowicach pacjentów zależy od drogi podawania faga i typu faga. Wstępne dane sugerują, że indukcja aktywności antyfagowej surowic w trakcie lub po PT nie wyklucza pozytywnego wyniku PT.

**2.Żaczek M., Łusiak-Szelachowska M., Jończyk-Matysiak E., Weber-Dąbrowska B., Międzybrodzki R., Owczarek B., Kopciuch A., Fortuna W., Rogóż P., Górski A. Antibody production in response to staphylococcal MS-1 phage cocktail in patients undergoing phage therapy. *Front. Microbiol.*, 2016, Oct 24, 7, 1681. doi:10.3389/fmicb.2016.01681. IF 4,076 (35 pkt MNiSW) (52 cyt. – *Scopus*, 49 cyt. – *Web of Science*).**

Praca miała na celu zbadanie odpowiedzi humoralnej poprzez określenie produkcji przeciwciał antyfagowych IgG, IgA i IgM, w surowicach chorych leczonych fagami, za pomocą

testu ELISA. 20 pacjentów stosowało koktajl fagowy *S. aureus* MS-1 (lizat) doustnie i/lub miejscowo w Ośrodku Terapii Fagowej IITD we Wrocławiu. Kontrolę stanowiły surowice 10 osób zdrowych, u których średni poziom IgG, IgA i IgM wynosił 27,7 AU; 0 AU i 0,8 AU. Średni poziom IgG, IgA i IgM przed terapią fagową wynosił 61,7 AU; 0,2 AU i 11,8 AU a w trakcie terapii fagowej wynosił 166,6 AU; 2,7 AU i 205,9 AU. Wzrost w trakcie terapii fagowej był istotny statystycznie dla przeciwciał IgG, IgA i IgM. Obserwowano korelację pomiędzy wyższym poziomem IgG i IgM i współczynnikiem inaktywacji fagów K w surowicach chorych w trakcie terapii fagowej. Współczynnik inaktywacji fagów (K) określał poziom neutralizacji aktywności fagów przez surowice ludzkie. Poziom aktywności antyfagowej surowic (AAS) badano po 30-minutowej inkubacji faga z rozcieńczoną surowicą w 37°C stosując płytkowy test neutralizacji. Niski poziom neutralizacji fagów oznaczano jako współczynnik inaktywacji fagów  $K < 5$ , średni jako  $K = 5-18$  a wysoki jako  $K > 18$ . Średni wsp. K przed terapią fagową wynosił 0,02 i wzrósł istotnie do 23,8 w trakcie terapii fagowej. Średni współczynnik K u osób zdrowych wynosił 0,003. Większość pacjentów nie wykazywała wysokiego poziomu przeciwciał w trakcie terapii fagowej. Zaobserwowano, że pacjenci nawet z wyższą odpowiedzią immunologiczną (indukcja IgG i IgM) wykazywali pozytywny wynik terapii. Ponadto negatywny wynik terapii fagowej u niektórych pacjentów towarzyszył niskiej produkcji przeciwciał antyfagowych w surowicach w czasie terapii fagowej.

**3.Łusiak-Szelachowska M., Żaczek M., Weber-Dąbrowska B., Międzybrodzki R., Letkiewicz S., Fortuna W., Rogóż P., Szufnarowski K., Jończyk-Matysiak E., Olchawa E., Walaszek K.M., Górski A. Antiphage activity of sera during phage therapy in relation to its outcome. Future Microbiol., 2017, Feb, 12(2), 109-117. doi: 10.2217/fmb-2016-0156. ISSN: 1746-0913. IF 3,190 (35 pkt MNiSW) (48 cyt. – Scopus, 49 cyt. – Web of Science).**

Sprawdzono zależność pomiędzy poziomem aktywności antyfagowej surowic 62 chorych poddanych terapii fagowej w Ośrodku Terapii Fagowej IITD we Wrocławiu a wynikiem terapii fagowej. Pacjenci poddani byli terapii fagowej w latach 2014-2015. Chorzy z różnymi schorzeniami stosowali różne fagi pojedyncze (lizaty): *S. aureus*, *E. faecalis* i fagi dla bakterii Gram-ujemnych lub koktajle fagowe *S. aureus*: MS-1 (lizat) lub OPMS-1 (preparat oczyszczony) doustnie, doustnie i miejscowo, doodbytniczo lub miejscowo. Współczynnik inaktywacji fagów (K) określał poziom neutralizacji aktywności fagów przez surowice ludzkie. Poziom aktywności antyfagowej surowic (AAS) badano po 30-minutowej inkubacji faga z rozcieńczoną surowicą w 37°C stosując płytkowy test neutralizacji. Niski poziom neutralizacji fagów oznaczano jako współczynnik inaktywacji fagów  $K < 5$ , średni jako  $K = 5-18$  a wysoki jako  $K > 18$ .

Kontrolna grupa 30 osób zdrowych wykazywała niskie współczynniki K dla faga *S. aureus* P4 (współczynnik  $K \leq 1,96$ ). Przed terapią fagową wykryto niskie poziomy neutralizacji fagów (współczynnik  $K \leq 1,84$ ). Potwierdzono, że poziom neutralizacji fagów zależy od sposobu podania fagów. Najmniej immunogenne jest podanie doustne lub doodbytnicze (odpowiednio  $K \leq 2,31$  i  $K \leq 1,77$ ). U 40% chorych stosujących fagi miejscowo wykryto wysoki poziom neutralizacji fagów ( $K = 20,25-235,66$ ). Ok. 50% pacjentów ma osłabioną odpowiedź immunologiczną, dlatego niski poziom przeciwciał podczas miejscowego podania fagów u 60% pacjentów może zależeć od osłabionej odporności. Oczyszczony preparat fagowy OPMS-1 jest bardziej immunogenny niż lizat fagowy MS-1. Wyższe miano preparatu OPMS-1 może być przyczyną wyższej immunogenności. Wysoki współczynnik  $K > 18$  wykryto głównie u części pacjentów z zakażeniami kości stosujący fagi miejscowo. U ok. 40% pacjentów, stosujących fagi miejscowo, z niską lub wysoką neutralizacją fagów zaobserwowano dobry wynik terapii (kategoria A-C).

Stwierdzono brak korelacji pomiędzy poziomem neutralizacji fagów przez surowice chorych leczonych fagami a wynikiem terapii fagowej. Wysoki poziom neutralizacji fagów nie wyklucza pozytywnego wyniku terapii fagowej.

**4. Łusiak-Szelachowska M., Miedzybrodzki R., Fortuna W., Borysowski J., Górski A. Anti-phage serum antibody responses and the outcome of phage therapy”. *Folia Microbiol.* 2021, 66(1), 127-131, doi.org/10.1007/s12223-020-00835-z. IF 2,099 (40 pkt MEiN) (5 cyt. – *Scopus*, 4 cyt. – *Web of Science*).**

Celem badań było określenie poziomu inaktywacji fagów przez surowice chorych z przewlekłym zapaleniem zatok poddanych terapii fagowej w Ośrodku Terapii Fagowej IITD we Wrocławiu oraz przez surowice osób zdrowych. Chorzy poddani byli terapii fagowej w latach 2010-2019. W tej jednorodnej grupie chorych z zapaleniem zatok zbadano korelację pomiędzy poziomem neutralizacji fagów przez surowice chorych poddanych terapii fagowej, wynikiem terapii fagowej i czasem trwania terapii. Zanalizowano stopień neutralizacji aktywności fagów u 25 chorych z przewlekłym zapaleniem zatok stosujących fagi miejscowo (n=4) lub doustnie i miejscowo (n=21). Poziom aktywności antyfagowej surowic (AAS) badano po 30-minutowej inkubacji faga z rozcieńczoną surowicą w 37°C stosując płytkowy test neutralizacji. Niski poziom neutralizacji fagów oznaczano jako współczynnik inaktywacji fagów  $K < 5$ , średni jako  $K = 5-18$  a wysoki jako  $K > 18$ .

Kontrolę stanowiły surowice 30 zdrowych dawców wykazując niski poziom AAS przeciwko fagowi *S. aureus*  $\phi 200$  ( $K_{sr} = 0,17$ ). Spośród 25 chorych z przewlekłym zapaleniem zatok 23 przypadki stosowało fagi *S. aureus* (pojedyncze fagi lizaty, koktajl fagowy lizat MS-1 lub koktajle fagowe oczyszczone OPMS-1, OPMS-1top) a 3 przypadki stosowało fagi pojedyncze lizaty *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* lub *E. coli*. Pacjentów podzielono na dwie grupy: 1) z pozytywnym wynikiem terapii fagowej (kategoria A-C) (n=8) i 2) z brakiem poprawy klinicznej (kategoria D-G) (n=17). Przed terapią fagową pacjenci w grupie 1 wykazywali niski współczynnik  $K_{sr} = 0,23$  i w grupie 2 stwierdzono niski współczynnik  $K_{sr} = 0,14$ . W czasie terapii fagowej  $K$  wzrósł istotnie w obydwu grupach pacjentów odpowiednio  $K_{sr} = 9,50$  (w dniach 14-62) i  $K_{sr} = 10,92$  (w dniach 14-63). Różnice pomiędzy  $K_{sr}$  w czasie terapii fagowej w grupie z pozytywnym wynikiem terapii i brakiem poprawy klinicznej były nieistotne statystycznie. Podzielono również pacjentów z zapaleniem zatok na grupę z  $K < 5$  (n=18) i  $K > 18$  (n=6) w trakcie terapii fagowej. Wszyscy pacjenci przed terapią fagową wykazywali niski  $K_{sr} = 0,17$ . Niski współczynnik  $K < 5$  wykryto u 72% pacjentów od 14 do 63 dnia terapii. 24% pacjentów wykazywało wysoki współczynnik  $K > 18$  w czasie terapii od 26 do 62 dnia terapii. W czasie terapii fagowej pozytywny wynik terapii obserwowano w grupie pacjentów z  $K < 5$  u 27,8% badanych a w grupie pacjentów z  $K > 18$  u 33,3% badanych. Różnica pomiędzy częstościami występowania pozytywnego wyniku terapii u pacjentów z  $K < 5$  i  $K > 18$  jest nieistotna statystycznie.

Podsumowując, około 30% pacjentów z zapaleniem zatok z niskim poziomem przeciwciał antyfagowych w surowicach w trakcie terapii fagowej wykazywało pozytywny wynik terapii fagowej. Podobny wynik leczenia uzyskano dla pacjentów z tym samym schorzeniem z wysokim poziomem przeciwciał antyfagowych w trakcie terapii fagowej. Nie wykazano korelacji pomiędzy poziomem przeciwciał antyfagowych w surowicach chorych w czasie terapii fagowej a wynikiem terapii fagowej.

**5. Żaczek M., Łusiak-Szelachowska M., Weber-Dąbrowska B., Międzybrodzki R., Fortuna W., Rogóż P., Letkiewicz S., Górski A. Humoral immune response to phage-based therapeutics. In: Górski A, Międzybrodzki R, Borysowski J (ed) Phage Therapy: A Practical Approach, Springer Nature Switzerland; 1st edn. 2019. ISBN: 978-3-030-26736-0; ISBN: 978-3-030-26735-3. doi: 10.1007/978-3-030-26736-0\_5 (80 pkt MNiSW) (4 cyt. – Scopus, 5 cyt. – Web of Science).**

Podkreślono w pracy wpływ kilku czynników na poziom aktywności antyfazgowej surowic (AAS) chorych poddanych terapii fazgowej w Ośrodku Terapii Fazgowej IITD we Wrocławiu, tj. typu infekcji, stanu immunologicznego pacjenta, dawki preparatu fazgowego, drogi podania faga i czasu trwania terapii fazgowej. Wskazano, że częstość występowania wysokiego poziomu AAS w czasie terapii fazgowej zależy od rodzaju preparatu fazgowego (fazg monowalentny lub koktajl fazgowy). Poziom aktywności antyfazgowej surowic (AAS) badano po 30-minutowej inkubacji faga z rozcieńczoną surowicą w 37°C stosując płytkowy test neutralizacji. Niski poziom neutralizacji fazgów oznaczano jako współczynnik inaktywacji fazgów  $K < 5$ , średni jako  $K = 5-18$  a wysoki jako  $K > 18$ .

Badani pacjenci wykazywali bardzo słabe AAS przed PT ( $K \leq 0,23$ ). Zdrowe osoby wykazywały również bardzo niskie AAS przeciwko różnym fazgom gronkowcowym, monowalentnym lub koktajlom  $K \leq 1,73$ . Wysoki współczynnik  $K > 18$  wykryto głównie u części pacjentów z zakażeniami kości stosujący fagi miejscowo. Podanie fazgów doustne, doodbytnicze lub dopęcherzowe indukuje słabą odpowiedź humoralną. Około 50% pacjentów poddawanych terapii fazgowej wykazuje niedobory odporności. Nowa analiza badań u 15 pacjentów wykazała, że ten sam preparat faga gronkowcowego był neutralizowany w niskim stopniu u 47% pacjentów w badanej grupie (ten sam typ choroby, ta sama droga podania faga) oraz w wysokim stopniu u 53% pacjentów w badanej grupie. Analiza uzyskanych wyników wykazała, że identyczne fagi indukują różne poziomy przeciwciał przeciw fazgom podczas terapii fazgowej, co prawdopodobnie zależy od stanu immunologicznego pacjenta. Wykazano wysoką dodatnią korelację między czasem trwania terapii fazgowej a współczynnikiem inaktywacji faga  $K$  (współczynnik korelacji Spearmana dla czasu leczenia wszystkimi typami fazgów gronkowcowych wynosił 0,85). Mediana najwcześniejszego dnia terapii, w której stwierdzono wysoki poziom neutralizacji faga  $K > 18$ , przypada na 41 dzień terapii. Częstość występowania wysokiego poziomu przeciwciał antyfazgowych w surowicach chorych poddanych terapii fazgowej zależy czy pacjenci stosują monoterapię czy koktajl fazgowy. U 43% pacjentów stosujących miejscowo koktajl fazgowy *S. aureus* stwierdzono wysoki poziom  $K > 18$  podczas gdy u 17% pacjentów stosujących miejscowo pojedyncze fagi *S. aureus* był wysoki poziom  $K > 18$ . Zaobserwowano brak korelacji pomiędzy poziomem przeciwciał antyfazgowych w surowicach chorych w czasie terapii fazgowej a wynikiem terapii fazgowej.

**5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.**

Przed uzyskaniem stopnia doktora zajmowałam się badaniami nad zdolnością komórek krwi obwodowej pacjentów z kiłą do wytwarzania niektórych cytokin, w Zakładzie Immunologii Chorób Zakaźnych, Laboratorium Mikrobiologii Lekarskiej IITD. Badania wykonywano we współpracy z Katedrą i Kliniką Dermatologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Ten temat badawczy został opisany w mojej rozprawie doktorskiej: "Zdolność komórek krwi obwodowej pacjentów chorych na kiłę do wytwarzania niektórych cytokin". Tematyka

dotycząca roli cytokin i tlenku azotu w odporności przeciwkilkowej została przedstawiona w 3 pracach oryginalnych, w których jestem współautorem.

Prace oryginalne:

1. Podwińska J., Żaba R., Łusiak M., Bowszyc J. Zdolność komórek krwi obwodowej pacjentów do wytwarzania TNF w różnych stadiach kiły. *Postępy Dermatol.*, 1997, 14, 227-237.
2. Łusiak M., Podwińska J., Żaba R., Bowszyc J. Tlenek azotu i jego rola w odpowiedzi immunologicznej i odporności w kile. *Postępy Dermatol.*, 1999, 16, 121-143.
3. Podwińska J., Łusiak M., Żaba R., Bowszyc J. The pattern and level of cytokines secreted by Th1 and Th2 lymphocytes of syphilitic patients correlate to the progression of the disease. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 2000, 28, 1-14. IF 1,244 (11 pkt MNiSW) (46 cyt. – *Scopus*, 43 cyt. – *Web of Science*).

Po uzyskaniu stopnia doktora zajmowałam się badaniami obecności fagów *E. coli* w kale ludzi zdrowych i pacjentów z chorobami przewodu pokarmowego (polipy jelit, choroba Leśniowskiego-Crohna, wrzodziejące zapalenie jelita grubego) w Laboratorium Bakteriofagowym IITD we współpracy z Kliniką Gastroenterologii i Hepatologii Wrocławskiego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu i Kliniką Gastroenterologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego w Warszawie. W wyniku tych badań powstała publikacja oryginalna:

1. Łusiak-Szelachowska M., Annabhani A., Weber-Dąbrowska B., Górski A., Bębenek M., Pudelko M., Strutyńska-Karpińska M., Muszyński J., Paradowski L. *Escherichia coli* bacteriophages in human stool of patients with gastrointestinal tract diseases. *Gastroenterol. Pol.* 2008, 15(2), 87-90. (3 cyt.- *Scopus*).

Po uzyskaniu stopnia doktora opublikowana została praca w ramach współpracy z Uniwersytetem Przyrodniczym we Wrocławiu, Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności.

Praca oryginalna:

1. Kurzępa-Skaradzińska A., Łusiak-Szelachowska M., Skaradziński G., Jończyk-Matysiak E., Weber-Dąbrowska B., Żaczek M., Maj T., Sławek A., Rymowicz W., Kłak M., Międzybrodzki R., Górski A. Influence of bacteriophage preparations on intracellular killing of bacteria by human phagocytes *in vitro*. *Viral Immunol.* 2013, 26(2), 150-162. doi: 10.1089/vim.2012.0071. IF 1,636 (15 pkt MNiSW) (8 cyt. – *Scopus*, 8 cyt. – *Web of Science*).

Po uzyskaniu stopnia doktora opublikowana została praca w ramach współpracy z Uniwersytetem Wrocławskim we Wrocławiu, Instytut Genetyki i Mikrobiologii.

Praca oryginalna:

1. Kęsik-Szeloch A., Drulis-Kawa Z., Weber-Dąbrowska B., Kassner J., Majkowska-Skropek G., Augustyniak D., Łusiak-Szelachowska M. Żaczek M., Górski A. Kropinski A.M. Characterising the biology of novel lytic bacteriophages infecting multidrug resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Virology*. 2013, 10, 100. doi: 10.1186/1743-422X-10-100. IF 2,089 (20 pkt MNiSW) (74 cyt. – *Scopus*, 66 cyt. – *Web of Science*).

## Załącznik 2. Autoreferat

Ilość cytowań zgodnie z bazami Scopus i Web of Science – stan na dzień 23.05.2022.

Index Hirscha – 17 (Scopus), 18 (Web of Science) – stan na dzień 23.05.2022.

IF zgodnie z rokiem opublikowania.

Liczba punktów MNiSW zgodnie z rokiem opublikowania.

W ramach współpracy z Uniwersytetem Przyrodniczym we Wrocławiu, Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności powstało zgłoszenie patentowe:

1. Weber-Dąbrowska B., Górski A., Żaczek M., Jończyk-Matysiak E., Owczarek B., Łusiak-Szelachowska M., Skaradzińska A., Skaradziński G., Mituła P., Międzybrodzki R., Kłak M.: Nowe szczepy bakteriofagów swoistych wobec bakterii z rodzaju *Staphylococcus*, *Enterococcus* oraz *Klebsiella* zwłaszcza do zastosowania w profilaktyce lub leczeniu zakażeń u chorych z zespołem stopy cukrzycowej. Nr zgłoszenia: P.431688 z dnia 3.11.2019.

### **Staże naukowe w instytucjach naukowych, z podaniem miejsca, terminu, czasu trwania stażu i jego charakteru**

W dniach 13.09-12.10.2021 odbyłam staż naukowy na Uniwersytecie Wrocławskim, Zakład Biologii Patogenów i Immunologii, ul. Przybyszewskiego 63-77 we Wrocławiu pod kierunkiem Prof. dr hab. Zuzanny Drulis-Kawy.

Celem stażu było poszerzenie wiedzy z zakresu badań nad bakteriofagami czego wynikiem było powstanie wspólnej anglojęzycznej publikacji poglądowej na temat łącznego podawania fagów i antybiotyków w leczeniu infekcji wywołanych przez patogenne bakterie.

1. Łusiak-Szelachowska M., Międzybrodzki R., Drulis-Kawa Z., Cater K., Knežević P., Winogradow C., Amaro K., Jończyk-Matysiak E., Weber-Dąbrowska B., Rękas J., Górski A. Bacteriophages and antibiotic interactions in clinical practice: what we have learned so far. *J. Biomed. Sci.* 2022, 29(1), 23. doi:10.1186/s12929-022-00806-1. IF 8,41 (100 pkt. MEiN).

W czasie stażu zapoznałam się z nowymi technikami i brałam udział w następujących badaniach:

1. Oznaczanie aktywności depolimeraz fagowych wobec kolekcji szczepów *Klebsiella*
2. Metody produkcji rekombinowanych depolimeraz fagowych
3. Mutageneza ukierunkowana depolimeraz fagowych
4. Transformacja szczepów ekspresyjnych *E. coli*
5. Analizy sekwencji produktów PCR
6. Ekspresja białka w *E. coli* BL21 z użyciem induktora IPTG
7. Oczyszczanie białek metodą chromatografii powinowactwa
8. Metody elektroforetyczne

Jeden z mechanizmów synergii fagów i antybiotyków opiera się na działaniu depolimeraz fagowych, które niszczą polisacharydy bakteryjne m.inn. w bakteryjnym biofilmie. Mechanizm ten został opisany w pracy poglądowej, która powstała w wyniku stażu. Połączone działanie fagów i antybiotyków zostało przedstawione w tej publikacji w badaniach *in vitro*, *in vivo* i jest stosowane w terapii klinicznej w ostatnim czasie. Perspektywy zastosowania tej skojarzonej terapii zostały również przedstawione w publikacji.

Brałam udział w grantach realizowanych we współpracy z innymi jednostkami naukowymi:

1. Grant POIG 01.03.01-02-003/08-00 "Optymalizacja charakterystyki i przygotowania preparatów fagowych do celów terapeutycznych". Zadanie nr 5: „Odnowa banku fagowego, poszukiwanie nowych fagów i ich charakterystyka (*Streptococcus*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Proteus*, *Stenotrophomonas*)”.

Kierownik grantu: Prof. dr hab. med. Andrzej Górski.

Współpraca z Instytutem Biochemii i Biofizyki PAN, Warszawa

oraz z Uniwersytetem Wrocławskim, Wydziałem Nauk Biologicznych.

okres realizacji: 1.01.2009-30.06.2013.

Wykonawca

Badania przyczyniły się do powstania zgłoszenia patentowego: Weber-Dąbrowska B., Górski A., Łusiak-Szelachowska M., Żaczek M.: Nowe szczepy bakteriofagów do leczenia zakażeń bakteryjnych, zwłaszcza szczepami bakterii lekoopornych rodzaju *Stenotrophomonas*. Nr zgłoszenia P.391552 z dnia 20.06.2010.

Wyniki badań dotyczące charakterystyki fagów *Stenotrophomonas* i *Citrobacter* uzyskane w czasie realizacji grantu przedstawiono na dwóch konferencjach (Weber-Dąbrowska B., Łusiak-Szelachowska M., Kassner J. i wsp. The biology and morphology of *Stenotrophomonas maltophilia* bacteriophages from the IJET phage collection. Congress Viruses of Microbes. 21-25.06.2010., Paryż; Weber-Dąbrowska B., Łusiak-Szelachowska M., Międzybrodzki R. i wsp. The biology and morphology of *Citrobacter freundii* bacteriophages from the IJET phage collection. The First International Oxford Bacteriophage Conference, Phages 2011. 19-21.09.2011., Oxford).

2. Projekt NCBiR „Biologiczna stabilizacja mikrobiologii wody przeznaczonej do spożycia“ „Biological stabilization of drinking water” INNOTECH-K2/IN2/7/18/844/NCBiR/13.

Wykonawca: Instytut Technologiczno-Przyrodniczy w Falentach.

Kierownik zadania dla IITD PAN: Dr Beata Weber-Dąbrowska

Współpraca z Instytutem Ochrony Środowiska-Państwowym Instytutem Badawczym w Warszawie, Politechniką Śląską w Gliwicach i Wojskowym Instytutem Higieny i Epidemiologii w Warszawie.

okres realizacji: 01.05.2013-30.04.2016.

Wykonawca

## **6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.**

### Wykłady i pokazy w ramach Dolnośląskiego Festiwalu Nauki

1. Wykład i pokaz: Weber-Dąbrowska B., Łusiak M.: Perspektywy bakteriofagowej terapii zakażeń bakteryjnych. IV Dolnośląski Festiwal Nauki, 20-22.09.2001, Wrocław, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN.
2. Pokaz: Weber-Dąbrowska B., Łusiak-Szelachowska M.: Aktywność lityczna bakteriofagów. V Dolnośląski Festiwal Nauki, 19-21.09.2002, Wrocław, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN.
3. Pokaz: Weber-Dąbrowska B., Łusiak-Szelachowska M.: Aktywność lityczna bakteriofagów. VI Dolnośląski Festiwal Nauki, 13.09.2003, Wrocław, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN.

## Załącznik 2. Autoreferat

4. Wykład i pokaz: Weber-Dąbrowska B., Łusiak-Szelachowska M.: Bakteriofagi –piraci komórek bakteryjnych. VII Dolnośląski Festiwal Nauki, 20-22.09.2004, Wrocław, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN.
5. Pokaz: Weber-Dąbrowska B., Łusiak-Szelachowska M.: Bakteriofagi-zabójcy bakterii. VIII Dolnośląski Festiwal Nauki, 19-21.09.2005, Wrocław, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN.
6. Pokaz: Weber-Dąbrowska B., Łusiak-Szelachowska M.: Biologia bakteriofagów. IX Dolnośląski Festiwal Nauki, 15-20.09.2006, Wrocław, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN.
7. Pokaz: Weber-Dąbrowska B., Łusiak-Szelachowska M., Żaczek M.: Bakteriofagi i ich oddziaływanie z komórką bakteryjną. XIII Dolnośląski Festiwal Nauki 17-21.09. 2010, Wrocław, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN.

### Opiekun praktyk studenckich

11 osób z wrocławskich uczelni odbyło pod moim kierunkiem praktyki studenckie w latach 2005-2019.

### Opiekun prac magisterskich

1. Agata Mazur, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, kierunek Biologia, I i II rok studiów magisterskich. Wykonywanie pracy magisterskiej od 1.01.2011 do 1.11.2012 r. "Neutralizacja bakteriofagów przez surowice osób zdrowych i chorych z zakażeniami bakteryjnymi poddanych terapii fagowej". Obrona pracy magisterskiej 19.11.2012.
2. Damian Juzyk, Uniwersytet Wrocławski, Wydział Nauk Biologicznych, kierunek Mikrobiologia, IV i V rok studiów. Wykonywanie pracy magisterskiej od 1.10.2012 do 27.06.2014 r. "Badania inaktywacji bakteriofagów przez surowice chorych poddanych terapii fagowej oraz określenie specyficzności przeciwciał antyfagowych". Obrona pracy magisterskiej 27.06.2014.
3. Kinga Walaszek, Politechnika Wroclawska, Wydział Chemiczny, IV i V rok Biotechnologii, (praca magisterska lata 2015-2016). „Badania neutralizacji wybranych bakteriofagów przez surowice chorych poddanych fagoterapii” (Research on neutralization of selected bacteriophages by sera of patients receiving phage therapy). Obrona pracy magisterskiej 04.07.2016.

### Opiekun pracy inżynierskiej

1. Patrycja Smok, Politechnika Wroclawska, Wydział Chemiczny, kierunek Biotechnologia, II i III rok. Wykonywanie projektu inżynierskiego od 10.02.2012 do 8.01.2013 r. "Badania obecności przeciwciał antyfagowych w surowicy chorych poddanych fagoterapii" (Examination of the presence of phage antibodies in patients` serum during phage treatment). Egzamin: 11.01.2013.



**7. Oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1-6, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej.**

### **Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych**

Podsumowanie. Mój dorobek naukowy obejmuje współautorstwo w 52 pracach (23 oryginalne i 29 poglądowe), w tym 43 anglojęzycznych. Pierwszym autorem byłam w 7 pracach oryginalnych i 6 pracach poglądowych. Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora byłam współautorem w 21 pracach oryginalnych i 29 pracach poglądowych. Łączny IF po uzyskaniu stopnia doktora prac oryginalnych wynosi 26,61 a prac poglądowych 80,381 czyli łącznie 106,991. Łączna liczba punktów MNiSW po uzyskaniu stopnia doktora prac oryginalnych wynosi 319 a prac poglądowych 1035 czyli łącznie 1354 punktów. W bazie Scopus znajduje się 38 prac, które były cytowane 1135 razy a wyłączając autocytowania 1048 razy, w bazie Web of Science 35 prac, cytowanych 1081 razy (991 bez autocytowań). Mój indeks Hirscha wynosi zgodnie z bazą Scopus: 17, zgodnie z bazą Web of Science: 18. Łączny IF pięciu prac objętych rozprawą habilitacyjną wynosi 10,811, łączna ilość pkt. MNiSW wynosi 205 i łączna ilość cytowań wynosi 215 – zgodnie z bazą Scopus (214 zgodnie z Web of Science). Jedna z prac oryginalnych objęta rozprawą habilitacyjną została wyróżniona przez Dyrektora IITD w dniu 15.10.2020 za najwyższą liczbę cytowań (28 cytowań) w latach 2017-2019 (Antiphage activity of sera during phage therapy in relation to its outcome. Future Microbiol. 2017, 12, 109-117). Według Scopus z dnia 23.05.2022 praca ta uzyskała 48 cytowań, według Web of Science 49 cytowań.

Na dorobek naukowy składa się również 19 komunikatów zjazdowych krajowych w formie plakatów i 35 komunikatów zjazdowych zagranicznych w formie plakatów oraz 2 referaty ustne na konferencjach naukowych krajowych. Byłam wykonawcą w 11 grantach w tym granty KBN, NCBiR, POIG, BINWIT w latach 1998-2021. Brałam udział w 2 wykładach i 7 pokazach Dolnośląskiego Festiwalu Nauki w latach 2001-2010. 11 osób z wrocławskich uczelni odbyło pod moim kierunkiem praktyki studenckie w latach 2005-2019. Byłam opiekunem 3 prac magisterskich i 1 pracy inżynierskiej w latach 2011-2016. Brałam udział w 1 międzynarodowym zgłoszeniu patentowym i 2 krajowych zgłoszeniach patentowych w latach 2002-2019. Otrzymałam 4 nagrody, w tym:

1. Nagroda National Geographic dla zespołu naukowego Laboratorium Bakteriofagowego IITD PAN: Travelery 2007 - Naukowe Odkrycie Roku - "Unikalna eksperymentalna terapia wirusami bakteryjnymi (bakteriofagami)".
2. Zespołowa Nagroda Dyrektora IITD PAN za opublikowanie pracy przeglądowej o najwyższym współczynniku wpływu (IF). Górski A., Jończyk-Matysiak E., Łusiak-Szelachowska M., Międzybrodzki R., Weber-Dąbrowska B., Borysowski J. The potential of phage therapy in sepsis. Front. Immunol. 2017, 8, 1783. IF 5,511. Otrzymana nagroda 11.10.2018.
3. Zespołowa Nagroda Dyrektora IITD PAN za opublikowanie w latach 2017-2019 pracy przeglądowej o najwyższej liczbie cytowań. Górski A., Dąbrowska K., Międzybrodzki R., Weber-Dąbrowska B., Łusiak-Szelachowska M., Jończyk-Matysiak E., Borysowski J.: Phages and immunomodulation. Future Microbiol. 2017, 12(10), 905-914 (50 cytowań). Otrzymana nagroda 15.10.2020.
4. Zespołowa Nagroda Dyrektora IITD PAN za opublikowanie w latach 2017-2019 pracy oryginalnej o najwyższej liczbie cytowań. Łusiak-Szelachowska M., Żaczek M., Weber-Dąbrowska B., Międzybrodzki R., Letkiewicz S., Fortuna W., Rogóż P., Szufnarowski K., Jończyk-Matysiak E., Olchawa E., Walaszek K.M., Górski A.: Antiphage activity of sera during phage therapy in relation to its outcome. Future Microbiol. 2017, 12, 109-117 (28 cytowań). Otrzymana nagroda 15.10.2020.

Ilość cytowań zgodnie z bazami Scopus i Web of Science – stan na dzień 23.05.2022.

Index Hirscha – 17 (Scopus), 18 (Web of Science) – stan na dzień 23.05.2022.

IF zgodnie z rokiem opublikowania.

Liczba punktów MNiSW zgodnie z rokiem opublikowania.

#### **a) Przebieg pracy naukowej przed uzyskaniem stopnia doktora**

Przed uzyskaniem stopnia doktora zajmowałam się badaniami nad zdolnością komórek krwi obwodowej pacjentów z kiłą do wytwarzania niektórych cytokin w Zakładzie Immunologii Chorób Zakaźnych, Laboratorium Mikrobiologii Lekarskiej IITD. Kierownikiem prac była doc. dr hab. Jadwiga Podwińska. Badania wykonywano we współpracy z Katedrą i Kliniką Dermatologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Badania te wykazały, że antygen *T. pallidum* jest lepszym niż ConA stymulatorem odpowiedzi typu komórkowego. Komórki stymulowane *in vitro* antygenem *T. pallidum* w kile I okresu surowiczoujemnej były zdolne do sekrecji IL-2, IFN, TNF (cytokiny wytwarzane przez limfocyty Th1), IL-10 (cytokina wytwarzana przez limfocyty Th2) i IL-12 (cytokina wytwarzana przez makrofagi) i słabo IL-6 (cytokina wytwarzana przez limfocyty Th2) i MIF (prace oryginalne opublikowano po obronie doktoratu: *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2000; *Przegl. Dermatol.* 2001). Największą zdolność do syntezy cytokin z wyjątkiem IL-10 i IL-6 stwierdzono w badaniach *in vitro* i *in vivo* w kile I okresu surowiczododatniej. Wyniki te wskazują, że w tym okresie kiły najsilniej wytwarzane są cytokiny przez limfocyty Th1. Cytokiny wytwarzane przez limfocyty Th1 biorą udział w odporności przeciwkiłowej w kile I i II okresu, gdzie obserwuje się spontaniczne znikanie wykwitów kiłowych. Wykazano, że w niektórych stadiach kiły wysokiemu poziomowi cytokin wytwarzanych przez limfocyty Th2 towarzyszy obniżony poziom cytokin wytwarzanych przez limfocyty Th1 i odwrotnie. IL-10 nie miała wpływu na zdolność komórek do wytwarzania IL-6 i do wytwarzania MIF-u w późnych stadiach kiły.

Wykazano również, że komórki pacjentów kiłowych mają zdolność do wydzielania tlenu azotu niszczącego sfagocytowane bakterie (pracę oryginalną opublikowano przed obroną doktoratu: *Postępy Dermatol.* 1999). Jego poziom *in vitro* i *in vivo* był obniżony, gdy poziom IL-10 był wysoki. Wykazano również, że krążące kompleksy immunologiczne (KKI) zawierające IgG hamują zdolność komórek do wytwarzania IL-2, IFN, TNF i MIF oraz *in vivo* tlenu azotu. KKI zawierające IgM stymulowały zdolność do sekrecji cytokin.

Ponadto obniżona zdolność do sekrecji cytokin przez komórki Th1 zwłaszcza w późnych stadiach kiły może być zależna od obniżenia odsetka komórek z receptorami CD4 i CD8 oraz poziomu rozpuszczalnych receptorów dla IL-2, podczas gdy odsetek limfocytów z receptorami CD25 (dla IL-2) jest stosunkowo wysoki. Wysoki odsetek komórek z receptorami CD25 i niski poziom rozpuszczalnych receptorów dla IL-2 jak również obniżony odsetek komórek z receptorami CD4 i CD8 w kile utajonej wczesnej sugeruje możliwość zastosowania w tym stadium kiły immunoterapii za pomocą IL-2. Trudności w leczeniu kiły późnej mogą być związane z obniżeniem odsetka limfocytów z receptorami CD4 i CD8, hamowaniem poziomu cytokin wydzielanych przez komórki Th1 przez IL-10 oraz tworzeniem się KKI zawierających IgG.

#### **b) Przebieg pracy naukowej po uzyskaniu stopnia doktora**

Badaniami dotyczącymi oddziaływania bakteriofagów z układem immunologicznym oraz obecności fagów w organizmie i charakterystyki fagów zajmowałam od 2000 roku

w Laboratorium Bakteriofagowym IITD kierowanym przez prof. dr hab. n. med. Andrzeja Górskiego.

Kierunek badawczy dotyczący aktywności antyfagowej surowic chorych poddanych terapii fagowej przedstawiony został w cyklu publikacji naukowych jako proponowana rozprawa habilitacyjna i został opisany w pkt. 4 tego autoreferatu.

Ten kierunek badawczy jest nadal kontynuowany a metoda neutralizacji fagów jest praktycznie wykorzystywana do monitorowania występowania neutralizujących przeciwciał antyfagowych w surowicach pacjentów poddanych terapii fagowej w Ośrodku Terapii Fagowej IITD w celu ustalenia znaczenia w terapii. Planuje się poszerzenie grup chorych z różnymi schorzeniami (w tym zakażenia kości, zakażenia skóry czy zakażenia dróg oddechowych) poddanych terapii fagowej doustnej lub miejscowej i analizę aktywności antyfagowej surowic dla każdej grupy chorych oddzielnie. Rozszerzana będzie też analiza dla grupy chorych z zakażeniami dróg moczowo-płciowych stosujący fagi doustnie, dopęcherzowo lub doodbytniczo. Uważam, że badania poziomu przeciwciał antyfagowych w surowicach w trakcie terapii fagowej powinny znajdować szersze zastosowanie w planowanych badaniach klinicznych jak również u każdego pacjenta stosującego fagi w terapii.

Oprócz tego cyklu badawczego po uzyskaniu stopnia doktora zajmowałam się również badaniami obecności fagów *E. coli* w kale ludzi zdrowych i pacjentów z chorobami przewodu pokarmowego (polipy jelit, choroba Leśniowskiego-Crohna, wrzodziejące zapalenie jelita grubego, rak jelita grubego) we współpracy z Kliniką Gastroenterologii i Hepatologii Wrocławskiego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu oraz z Kliniką Gastroenterologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego w Warszawie. Badania wykazały niższą częstość występowania fagów *E. coli* u chorych w porównaniu z osobami zdrowymi. Miano fagów *E. coli* było wyższe u chorych w porównaniu z osobami zdrowymi. Wyniki sugerują, że mogą istnieć zależności pomiędzy obecnością fagów w przewodzie pokarmowym człowieka i niektórymi jego chorobami (*Gastroenterol. Pol.* 2008). Dwie prace poglądowe (*Gut Pathog.* 2017; *Microorganisms* 2020), w których jestem pierwszym autorem i pierwszym współautorem wniosły wkład w wyjaśnienie znaczenia fagów w ludzkim organizmie. Znaczenie fagów w regulacji populacji bakteryjnej w jelicie ludzi i rolę immunomodulacyjną w jelicie ludzi przedstawiono w pracy poglądowej (*Gut Pathog.* 2017). Podkreślono w pracy poglądowej, że fagi mogą również wywierać korzystny wpływ w transplantacji mikroorganizmów kałowych (*Microorganisms* 2020). Większość fagów w organizmie ma charakter łagodny, dlatego ich efekt terapeutyczny jest niejasny. Zacytowano istotną pracę dotyczącą badań klinicznych, które wykazały bezpieczeństwo stosowania fagów litycznych w zaburzeniach jelitowych (*Microorganisms* 2020).

Kolejnym kierunkiem badań była ocena wpływu czynników fizyko-chemicznych na aktywność niektórych fagów. W ramach grantu POIG 01.03.01-02-003/08-00 "Optymalizacja charakterystyki i przygotowania preparatów fagowych do celów terapeutycznych" okres realizacji grantu: 1.01.2009-30.06.2013 wykonałam m.in. badania charakterystyki 10 fagów *Stenotrophomonas maltophilia* i 10 fagów *Citrobacter freundii*, których wyniki przedstawiono na dwóch konferencjach (Weber-Dąbrowska B., Łusiak-Szelachowska M., Kassner J. i wsp. The biology and morphology of *Stenotrophomonas maltophilia* bacteriophages from the IIET phage collection. Congress Viruses of Microbes. 21-25.06.2010., Paryż; Weber-Dąbrowska B., Łusiak-Szelachowska M., Międzybrodzki R. i wsp. The biology and morphology of *Citrobacter freundii* bacteriophages from the IIET phage collection. The First International Oxford Bacteriophage Conference, Phages 2011. 19-21.09.2011., Oxford). Badano wpływ temp. 60°C przez 10 min. na aktywność fagów, wpływ chloroformu przez 2 godz. i 24 godz. w temperaturze

## Załącznik 2. Autoreferat

pokojuwej i wpływ pH 4, 5, 6 i 8 przez 1 godz. i 5 godz. w temperaturze pokojowej na aktywność fagów. Badano również stopień adsorpcji fagów do komórek bakteryjnych.

Aktywność 10 fagów *S. maltophilia* obniżyła się o pół rzędu do 1 rzędu w temp. 60°C przez 10 min. i pod wpływem chloroformu przez 2 godz. i 24 godz. Aktywność 10 fagów *S. maltophilia* obniżyła się o pół rzędu do 1 rzędu w pH 5, 6 i 8 przez 1 godz. i 5 godz. z wyjątkiem 5 fagów, których aktywność nie zmieniła się w pH 5 i 6 przez 1 godz. Największe obniżenie aktywności o 2-4 rzędów 5 fagów *S. maltophilia* obserwowano w pH 4 przez 5 godz. Fagi *Stenotrophomonas* adsorbowały się do komórek bakteryjnych odpowiednio w wysokim stopniu 67,5%; 76,1%; 84,3% po 40 min, 1 godz. i po 1,5 godz. inkubacji.

Temp. 60°C przez 10 min. obniżyła aktywność fagów *C. freundii* o 2,5-7 rzędów. Chloroform obniżył miano fagów o pół rzędu do 1 rzędu. Największe obniżenie miana fagów *Citrobacter* o 1-8 rzędów wykryto w pH 4 przez 1 godz. i przez 5 godz. dla 5-7 fagów. Fagi *Citrobacter* adsorbowały się do komórek bakteryjnych odpowiednio w wysokim stopniu 76,5%; 81,5% po 15 min. i 30 min. inkubacji. Aktywność fagów *Stenotrophomonas* była stabilna w temp. 60°C przez 10 min. i pod wpływem chloroformu oraz w pH 5, 6, i 8, podczas gdy aktywność fagów *Citrobacter* była stabilna pod wpływem chloroformu i w pH 5, 6 i 8. Największe obniżenia aktywności fagów *Stenotrophomonas* i fagów *Citrobacter* obserwowano w pH 4. Badania dotyczące wpływu czynników fizyko-chemicznych na aktywność innych rodzajów fagów są kontynuowane.

W ostatnim czasie brałam udział w przygotowywaniu trzech prac poglądowych jako pierwszy autor i pierwszy współautor. Jedna praca („Bacteriophages and lysins in biofilm control”, *Virol. Sin.* 2020) dotyczy znaczenia fagów i lizyn w usuwaniu biofilmu w badaniach *in vitro*, *in vivo* w zakażeniach układu moczowego, zakażeniach ortopedycznych i zakażeniach przyzębia. Druga praca (“Anti-biofilm activity of bacteriophages and lysins in chronic rhinosinusitis”, *Acta Virol.* 2021) wnosi wkład w wyjaśnienie roli fagów i lizyn w eliminacji biofilmu w badaniach *in vitro*, *in vivo* w przewlekłym zapaleniu zatok. Kolejna praca (“Bacteriophages and antibiotic interactions in clinical practice: what we have learned so far”, *J. Biomed. Sci.* 2022) dotyczy możliwości stosowania fagów i antybiotyków w terapii klinicznej. W pracy opisujemy mechanizmy synergii fagów i antybiotyków.

6.06.2022

Data

Manonnie Lunaj-Sulechowska

(podpis wnioskodawcy)