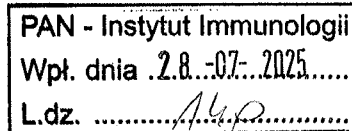


Kraków, 24.07.2025

Dr hab. n.med. Agnieszka Chmielarczyk
Katedra Mikrobiologii, Wydział Lekarski
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum



UNIwersYTET
JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM
MEDICUM

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Natalii Bagińskiej pt. „Izolacja oraz
określenie potencjału terapeutycznego fagów specyficznych wobec szczepów
Acinetobacter baumannii”.**

Wprowadzenie

Wydział Lekarski

Wielolekooporne szczepy *Acinetobacter baumannii* powodujące zakażenia krwi, dróg oddechowych, układu moczowego oraz skóry i tkanek miękkich stanowią obecnie bardzo poważny problem terapeutyczny przede wszystkim na oddziałach intensywnej terapii. Polska należy do tych krajów europejskich gdzie liczba izolowanych od pacjentów karbapenemoopornych *A.baumannii* od wielu lat jest bardzo wysoka. Powoduje to, że szukanie alternatywnych do antybiotyków metod leczenia zakażeń powodowanych przez te szczepy staje się nie tylko potrzebne ale wręcz niezbędne. Jedną z takich metod może być terapia z wykorzystaniem fagów lub koktajli fagów specyficznych wobec szczepów *A.baumannii*.

Ocena formalno-merytoryczna pracy

Rozprawa doktorska Pani mgr Natalii Bagińskiej została wykonana pod kierunkiem naukowym dr hab. Ewy Jończyk-Matysiak, prof. IITD PAN w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda PAN we Wrocławiu.

Rozprawę doktorską stanowi cykl spójnych tematycznie czterech publikacji naukowych, dwóch przeglądowych oraz dwóch oryginalnych, we wszystkich doktorantka jest pierwszym autorem. Publikacje zostały opublikowane w czterech różnych czasopismach Antibiotics, Virologica Sinica, Viruses i Scientific Reports o punktacji łącznej według MNiSW = 380 oraz IF = 16. Publikacje pochodzą z lat 2019, 2021, 2023 i 2024.

ul. Czysta 18

Do rozprawy doktorskiej zawierającej teksty czterech artykułów naukowych Pani magister dołączyła w postaci osobnej książeczki Autoreferat, w którym na 26 stronach przedstawia wprowadzenie do swojej pracy, cel pracy i hipotezy badawcze, omówienie wyników zawartych w publikacjach oryginalnych P3 i P4,
PL 31-121 Kraków
tel. +48(12) 633 25 67
fax +48(12) 423 39 24
www.km.cm-uj.krakow.pl



UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM
MEDICUM

podsumowanie i wnioski, bibliografię oraz wyszczególnienie całego swojego naukowego dorobku. Ogólny dorobek naukowy Pani mgr Natalii Bagińskiej obejmuje łącznie 13 publikacji o sumarycznym IF=58,3. Pani magister była kierownikiem jednego projektu naukowego finansowanego przez NCBI (Norway Grants) oraz wykonawcą w innym. Wyniki badań Pani mgr prezentowała podczas 8 konferencji naukowych.

Sama rozprawa doktorska poza tekstami 4 publikacji zawiera streszczenie w j. polskim i j. angielskim oraz oświadczenia współautorów. Wkład własny pracy Doktorantki został jasno określony w dołączonych oświadczeniach współautorów i wskazuje na indywidualny udział Pani mgr Natalii Bagińskiej w kolekcjonowaniu materiałów i danych, opracowaniu metodologii, przeprowadzeniu eksperymentów, przeglądzie literatury oraz jej wiodącą rolę w przygotowywaniu tekstów manuskryptów, tabel i rycin.

Wydział Lekarski

Katedra Mikrobiologii

Pierwsza publikacja przeglądowa (P1) zwraca uwagę na problemy terapeutyczne w leczeniu zakażeń powodowanych przez szczepy *A.baumannii* oraz dokonuje przeglądu wyizolowanych fagów skierowanych wobec *A.baumannii* i wykazujących skuteczne działanie. Doktorantka zestawiała znane fagi w czytelnej Tabeli, przedstawiła także zwierzęce modele, w których zastosowanie wybranych fagów wykazało potencjał leczniczy. Ponadto w pracy zawarła opis klinicznego badania z wykorzystaniem koktajli fagowych u ciężko chorego pacjenta, u którego martwicze zapalenie trzustki zostało powikłane zakażeniem wielolekoopornym szczepem *A.baumannii*. Terapia zakończyła się sukcesem. Publikacja w bardzo przystępny sposób przedstawia istniejący stan wiedzy na temat znalezionych i scharakteryzowanych fagów dla *A.baumannii* oraz możliwość ich zastosowania, przez co znakomicie uzasadnia potrzebę podjęcia badań w tym zakresie przez Doktorantkę w ramach pracy doktorskiej. Jedynym błędem jaki jako Recenzent znalazłam w przytoczonej publikacji jest sformułowanie „inactivation of antimicrobial enzymes” przy wymienianiu mechanizmów oporności u *A.baumannii*. Powinno być raczej „inactivation of antimicrobials” lub „production of antimicrobial enzymes” ponieważ bakterie produkują enzymy inaktywujące antybiotyki a nie inaktywują enzymy przeciwdrobnoustrojowe.

Druga publikacja przeglądowa (P2) prezentuje informacje dotyczące zastosowania fagów skutecznych wobec *A.baumannii* w zakażeniach układu moczowego. Pomimo, że *A.baumannii* nie jest głównym patogenem w zakażeniach układu moczowego, może stanowić problem terapeutyczny zwłaszcza w ZUM związanych ze stosowaniem cewników i szczególnie wtedy gdy zakażenia dotyczą

ul. Czysta 18

PL 31-121 Kraków

tel. +48(12) 633 25 67

fax +48(12) 423 39 24

www.km.cm-uj.krakow.pl



UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM
MEDICUM

pacjentów oddziału intensywnej terapii. Doktorantka dokonuje przeglądu literatury wskazując, że uropatogenne szczepy *A.baumannii* coraz częściej są wielolekooporne i biofilmotwórcze co zdecydowanie utrudnia leczenie. W drugiej części publikacji Pani mgr Natalia Bagińska prezentuje użycie bakteriofagów wobec szczepów uropatogennych w badaniach *in vitro* oraz badaniach na modelach zwierzęcych zwracając uwagę na bezpieczeństwo i skuteczność takiego postępowania, ale jednocześnie wskazując, że nie było jeszcze przeprowadzanej takiej terapii w badaniu klinicznym u pacjentów. Ciekawą informacją jest również to, że nawet nabycie oporności na fagi przez szczepy *A.baumannii* może być w gruncie rzeczy pozytywne, ponieważ szczepy odporne mogą być bardziej podatne na niektóre antybiotyki. Jako recenzent żałuję, że w Tabeli 1 pokazującej odsetek *A.baumannii* izolowanych z dróg moczowych brakuje danych z Polski; poza tym jestem ciekawa czy od czasu opublikowania pracy przeglądowej pojawiły się już doniesienia o zastosowaniu bakteriofagów w leczeniu ZUM u ludzi? Omawiana publikacja przeglądowa również jest znakomitym wstępem do zadań badawczych jakie postawiła sobie Doktorantka w swojej pracy, ponieważ badała ona stabilność fagów w moczu pobranym od pacjentów.

Wydział Lekarski

Katedra Mikrobiologii

Publikacja nr 3 (P3) to pierwsza z oryginalnych publikacji wchodzących w skład rozprawy. Koncentruje się ona na wyizolowaniu i namnożeniu bakteriofagów oraz przebadaniu ich właściwości biologicznych. Doktorantka aby wyizolować bakteriofagi przebadła aż 460 próbek wody i wykorzystała 137 szczepów *Acinetobacter* spp. Zastosowała w badaniu szereg metod klasycznej i molekularnej mikrobiologii. Opracowane wyniki wskazują na ogrom pracy wykonanej przez Doktorantkę, wyizolowane bakteriofagi zostały szczegółowo scharakteryzowane, została opisana ich morfologia, spektrum lityczne, szybkość adsorpcji oraz współczynnik zakażenia. Fagi zostały również zsekwencjonowane i opisano podobieństwo ich genomów do już znanych fagów specyficznych dla *A.baumannii*. Opis wyników został wzbogacony o liczne Tabele i Ryciny. Jedyną rzeczą, której mi zabrakło był brak tabeli pokazującej odsetek oporności wykorzystanych szczepów *A.baumannii* na konkretne antybiotyki bądź pokazującej profil oporności antybiotykowej tych szczepów wobec których fagi były skuteczne (takie profile badanych szczepów pojawiają się w publikacji P4). W badaniu

wykorzystano pojedyncze szczepy innych gatunków pałeczek Gram ujemnych wobec których również testowano znalezione fagi i nie wykazano specyficzności wobec nich, zastanawiam się czy liczba przebadanych szczepów innych gatunków

ul. Czysta 18

PL 31-121 Kraków

tel. +48(12) 633 25 67

fax +48(12) 423 39 24

www.km.cm-uj.krakow.pl

była wystarczająca aby wywnioskować, że badane fagi nie są specyficzne do innych gatunków niż *A.baumannii*?



UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM
MEDICUM

W publikacji 4 (P4) Doktorantka zajęła się badaniem stabilności wcześniej wyizolowanych fagów w różnych warunkach temperaturowych, pH i związkach takich jak olejki eteryczne, roztwory nanocząstek srebra i miedzi czy środki do dezynfekcji. Następnie Pani mgr Natalia Bagińska przeprowadziła eksperymenty dotyczące stabilności bakteriofagów w moczu pobranym od pacjentów z ZUM oraz od osób zdrowych. Zbadała również zdolność fagów do degradacji biofilmu wytwarzanego przez uropatogenne szczepy *Acinetobacter* spp. Opublikowane badania zostały przeprowadzone z dużą starannością, metodyka opisana jest szczegółowo, eksperymenty wykonywane były w powtórzeniach i z zastosowaniem warunków kontrolnych. Wyniki zaprezentowane w publikacji są zarówno opisowo jak i z wykorzystaniem Tabel i Rycin. Uzyskane rezultaty podlegały analizie statystycznej. Warto zauważyć, że do publikacji dołączony jest materiał dodatkowy zawierający dużo szczegółowych wykresów dających wgląd w surowe wyniki poszczególnych analiz, co może być wartościowe dla osób przeprowadzających podobne doświadczenia. Badania dotyczące stabilności przechowywania fagów oraz ich stabilności w trakcie podawania gotowych preparatów są niezmiernie istotne gdy chcemy wprowadzić takie preparaty do zastosowania w terapii klinicznej, badania Doktorantki wskazują że w przypadku ZUM jak najbardziej jest to możliwe. Ciekawa jestem jak bakteriofagi specyficzne dla *A.baumannii* zachowują się w innych materiałach klinicznych, ponieważ problemy z leczeniem zakażeń powodowanych przez *Acinetobacter* spp. najczęściej występują w zakażeniach dróg oddechowych i zakażeniach krwi. Mam zatem nadzieję, że taki temat pojawi się w dalszych badaniach Doktorantki.

Wydział Lekarski

Katedra Mikrobiologii

Rozprawa doktorska kończy się Wnioskami (Conclusions) w których Pani mgr podsumowuje najważniejsze ustalenia pochodzące z obu oryginalnych publikacji. Jedynym mankamentem jest fakt, że zostały one przedstawione jedynie w j. angielskim, ale z kolei Podsumowanie i wnioski w j. polskim znajdują się w dołączonym Autoreferacie.

Oceniając temat przedstawionej pracy doktorskiej uważam, że jest on bardzo aktualny w kontekście bardzo szybko narastającej lekooporności bakterii i potrzeby szukania nowych rozwiązań terapeutycznych. Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska została wykonana w ramach projektu finansowanego ze źródeł zewnętrznych i uważam, że samo pozyskanie finansowania przez Doktorantkę jest sukcesem. Ponadto, Doktorantka potrafiła dobrze zaplanować swoje badania i je

ul. Czysa 18

PL 31-121 Kraków

tel. +48(12) 633 25 67

fax +48(12) 423 39 24

www.km.cm-uj.krakow.pl



UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM
MEDICUM

konsekwentnie realizować Główne wyniki badań zaprezentowano w dwóch oryginalnych artykułach, ale również prace przeglądowe wchodzące w skład rozprawy są bardzo potrzebne i pozwalają zapoznać się z zagadnieniami podejmowanymi później w części eksperymentalnej zatem stanowią pożądany teoretyczny wstęp do pracy. Założenia i cele pracy zostały sformułowane w sposób przejrzysty i zostały osiągnięte. Na uwagę zasługuje właściwy dobór metod badawczych i bardzo dobre przygotowanie laboratoryjne Doktorantki. Jak wynika z załączonych oświadczeń zdecydowaną większość eksperymentów wykonała ona samodzielnie. Tabele i Ryciny gromadzące i prezentujące wyniki są starannie wykonane, czytelne, jasno pokazujące kolejne etapy pracy badawczej i dobrze zestawiające uzyskane dane. Wyniki w dużej mierze zostały też opracowane statystycznie oraz logicznie przeanalizowane w odniesieniu do danych literaturowych. Dobór literatury zarówno do publikacji oryginalnych jak i do publikacji przeglądowych wskazuje, że Doktorantka nie ma problemu z dokonywaniem naukowego przeglądu baz literaturowych i umiejętnością dyskusowania własnych wyników w kontekście pracy innych badaczy.

Wydział Lekarski

Katedra Mikrobiologii

Poza drobnymi uwagami/komentarzami, które zawarłam omawiając poszczególne publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej, nie znalazłam w przedstawionej rozprawie doktorskiej żadnych uchybień.

Podsumowując, stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska Pani mgr Natalii Bagińskiej jest wartościowa i posiada duży potencjał poznawczy. Przedstawione badania mają zarówno charakter naukowy jak i potencjalny przyszłościowy charakter aplikacyjny. Należy jednoznacznie stwierdzić, że rozprawa doktorska Pani mgr Natalii Bagińskiej pt. „Izolacja oraz określenie potencjału terapeutycznego fagów specyficznych wobec szczepów *Acinetobacter baumannii*” spełnia warunki określone w art. 187 ust. 1-4 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tj. Dz. U. z 2024 r. poz. 1571 z późn. zm.) zatem wnioskuję o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w dyscyplinie nauki biologiczne.

Jednocześnie wysoka wartość rozprawy potwierdzona przez publikacje w czasopiśmie o wysokim współczynniku oddziaływania IF, oraz spełnione wymagania formalne upoważniają mnie do złożenia wniosku o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.

ul. Czysta 18

PL 31-121 Kraków

tel. +48(12) 633 25 67

fax +48(12) 423 39 24

Dr hab. n. med. Agnieszka Chmielarczyk

www.km.cm-uj.krakow.pl